

Biotechnologie výroby průmyslového lihu

Petra Branná

Bakalářská práce
2009



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav potravinářského inženýrství
akademický rok: 2008/2009

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Petra BRANNÁ**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Biotechnologie výroby průmyslového lihu**

Zásady pro vypracování:

- **Charakterizace surovin pro výrobu průmyslového lihu.**
- **Obecná charakteristika vlastností alkoholů, především etanolu.**
- **Princip zpracování suroviny před a po kvasném procesu.**
- **Technologie získávání lihu z průmyslové zápary.**

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin II*, OSSIS, Tábor 1999.

[2] ROP, O. a HRABĚ, J. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*, Skripta 2009.

[3] KADLEC, P. a kol. *Technologie potravin II*, VŠCHT Praha 2007.

[4] RYCHTERA, M. *Lihovarství, drožďářství a vinařství. I. a II. část*, VŠCHT Praha 1991.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.

Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání bakalářské práce:

18. února 2009

Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2009

Ve Zlíně dne 31. května 2009

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.

děkan



Ignác Hoza

prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.

vedoucí katedry

ABSTRAKT

Abstrakt česky

Cílem bakalářské práce je popsat biotechnologický proces výroby průmyslového lihu, který využívá živé mikroorganismy (kvasinky), jejichž primární činností je fermentace (kvašení) zkvasitelných cukrů k produkci etanolu. Práce je především zaměřena na výrobu průmyslového lihu z melasy, která je vedlejším produktem při výrobě cukru a tradiční lihovarnickou surovinou v průmyslových lihovarech. Dále je v práci uveden princip úpravy melasy před fermentací, popis jednotlivých fermentačních technologií a způsob získání lihu z průmyslové zápary.

Klíčová slova: etanol, melasa, zápara, kvasinky, fermentace, destilace

ABSTRACT

Abstrakt ve světovém jazyce

The aim of the bachelor's thesis is to describe the bio-technological process of production of industrial alcohol using living micro-organisms (yeasts) whose primary activity is fermentation of fermentable carbohydrates producing ethyl alcohol. The thesis is above all focused on production of industrial alcohol from molasses which is a side-product when producing sugar and a traditional base material in alcohol industry. Furthermore, the principles of arrangement of molasses before fermentation, individual fermentation technologies and the procedure of getting alcohol from fermenting wort are described in the thesis.

Keywords: ethyl alcohol, molasses, wort, yeast, fermentation, distillation

Děkuji vedoucímu bakalářské práce panu doc. Ing. Janu Hraběti, Ph.D. za cenné rady, poskytnuté informace a pomoc při zpracování bakalářské práce.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

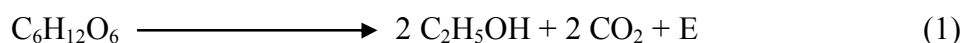
OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 SUROVINY K VÝROBĚ LIHU	11
1.1 SUROVINY CUKERNATÉ	11
1.1.1 Ovoce	11
1.1.2 Cukrovka	11
1.1.3 Melasa	12
1.2 SUROVINY ŠKROBNATÉ	13
1.2.1 Brambory	13
1.2.2 Obiloviny	14
1.3 SUROVINY OBSAHUJÍCÍ DALŠÍ POLYSACHARIDY	15
1.4 LIGNOCELULÓZOVÉ SUROVINY	15
2 VÝTĚŽNOST	16
3 MIKROORGANISMY V LIHOVARNICTVÍ	17
3.1 VÝŽIVA KVASINEK	19
3.2 ČINITELÉ OVLIVŇUJÍCÍ ČINNOST KVASINEK	19
3.3 NEŽÁDOUCÍ MIKROORGANISMY	20
3.3.1 Bakterie	20
3.3.2 Plísně a divoké kvasinky	21
3.3.3 Ochrana před kontaminanty	21
4 BIOCHEMISMUS LIHOVÉHO KVAŠENÍ	22
5 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA ALKOHOLŮ	23
5.1 CHARAKTERISTIKA A VLASTNOSTI ETANOLU	23
6 VÝROBA PRŮMYSLOVÉHO LIHU Z MELASY	24
6.1 NÁKUP, PŘEJÍMKA, SKLADOVÁNÍ, ČERPÁNÍ A ÚPRAVA MELASY	24
6.2 PŘÍPRAVA FERMENTAČNÍHO MÉDIA (ZÁPARY)	25
6.3 ZAKVAŠOVÁNÍ A KVAŠENÍ ZÁPARY	26
6.4 ZPŮSOBY KVAŠENÍ A JEHO PRŮBĚH	26
6.4.1 Klasický vsádkový proces	27
6.4.2 Přítokový způsob	27
6.4.3 Způsob s recyklací kvasinek	27
6.4.4 Kontinuální způsoby lihového kvašení	28
6.4.5 Nové způsoby kvašení melasových zápar	29
6.5 DESTILACE A RAFINACE	30
6.5.1 Destilace	30
6.5.2 Rafinace	33
6.5.3 Lihovarské výpalky a jejich zpracování	34

7 KVALITATIVNÍ POŽADAVKY NA FERMENTAČNÍ LÍH.....	35
ZÁVĚR	36
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	38
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	40
SEZNAM OBRÁZKŮ	41
SEZNAM TABULEK	42
SEZNAM PŘÍLOH	43

ÚVOD

Etanol je nejznámějším produktem metabolismu kvasinek. Jeho výrobou se zabývaly již i starověké národy. Do první poloviny 17. století se nevědělo, z jakých látek se lih vytváří až holandský lékař a chemik van Helmont zjistil, že vedle etanolu vzniká i oxid uhličitý. Objasnění tvorby lihu se podařilo teprve počátkem 19. století francouzskému vědci Gay-Lussacovi, který znázornil první lihové kvašení známou rovnicí:



Dále souvisel vývoj poznání o lihovém kvašení se studiem kvasinek. Názor Pasterův byl považován za správný (lihové kvašení souvisí s existencí a činností živých organismů) do roku 1896, kdy Buchner získal mechanickým rozrušením kvasinkových buněk šťávu, která sama o sobě vyvolala lihové kvašení atd.

Na území dnešní České republiky vznikly první lihovary již v 16. století. Lih se vyráběl především z obilí, zejména však ze žita. Brambory se začaly ve větším měřítku používat až koncem 18. století. Výroba lihu se proto začala přesouvat z měst na venkov, tedy k surovinovému zdroji. Původní technologie byly primitivní, k rychlejšímu rozvoji přispělo zavádění destilačních aparátů vyhřívaných parou. Paření brambor pod tlakem v pařácích je spojeno se jmény Henze a Hollefreund. Po první světové válce se využilo i nadprodukce cukrovky, při této výrobě byl však pařákový způsob nahrazován způsobem difuzním. Po obilí a cukrovce se objevuje melasa. Nejprve byla zpracovávána v cukrovarech, které si vybudovaly malé lihovary. První samostatný melasový lihovar vznikl v roce 1838 v Praze. Nejstarší průmyslový lihovar byl postaven v Kolíně v roce 1860, dále pak v Praze-Libni roku 1873, Mladé Boleslavi, Mostě, Pardubicích, Smiřicích. Na Moravě vznikl ve 2. polovině 19. století průmyslový lihovar v Rájci nad Svitavou, Olomouci, Kojetíně. V roce 1874 bylo v Čechách 284 zemědělských lihovarů, 40 menších lihovarů melasových a 8 velkých průmyslových lihovarů. Tehdy tyto závody vyrobily kolem 420 tis. hl etanolu. Řada závodů přežila hospodářské krize, války 20. století a tvoří část dnešního lihovarského průmyslu. V roce 2002 byly v provozu 4 průmyslové lihovary (Kralupy nad Vltavou, Kolín, Chrudim a Kojetín) a cca 40 zemědělských lihovarů, některé z nich jsou rozšířeny o rafinaci a rektifikaci surového lihu.

V důsledku energetické krize, která postihla svět v 70. letech minulého století, dochází k prudkému zvýšení zájmu o bioetanol, jako obnovitelný zdroj energie, který by mohl na-

hradit fosilní paliva. Ohromný nárůst výroby byl umožněn i využitím nových vědeckých poznatků a moderních technologií. Rozsáhlé bioetanolové programy vznikly v Brazílii a USA, kde etanol tvoří až 20 % ze složení motorových paliv.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SUROVINY K VÝROBĚ LIHU

K výrobě lihu lze použít všechny suroviny, obsahující přímo zkvasitelné cukry [1]. Volba vhodné sacharidické suroviny závisí na enzymovém vybavení mikroorganismů, které určuje tzv. zkvasitelnost sacharidů. V případě kvasinek jsou přímo zkvasitelné jen monosacharidy - hexosy (hlavně glukosa, fruktosa, mannososa, méně již galaktosa) a disacharidy (sacharosa, maltosa, méně laktosa a melibiosa) [2]. Anebo polysacharidy jako škrob, celulósa, inulin apod., které však musí být před zkvašením hydrolyzovány na jednoduché zkvasitelné cukry, lze je převést enzymatickou případně kyselou i alkalickou hydrolyzou. Suroviny k výrobě lihu lze rozdělit na cukernaté, škrobnaté a lignocelulózové [1].

1.1 Suroviny cukernaté

Suroviny cukernaté obsahují hlavně glukosu, fruktosu a sacharosu, nebo jiné přímo zkvasitelné cukry. Ze zemědělských surovin je obsahují cukrovka, ovoce, z průmyslových odpadů je to melasa [1].

1.1.1 Ovoce

Ovoce přichází v úvahu jako surovina v období vysokých sklizní, nebo při hromadném předčasném opadání, způsobené suchem, škůdci, fyziologickými chorobami. Jinak se používá výhradně k výrobě ovocných destilátů [1]. Obsahuje hlavně glukosu a fruktosu a jen málo sacharosy. Obsah cukru kolísá podle stupně zralosti, odrůdy i druhu [3].

1.1.2 Cukrovka

Cukrovka se u nás na výrobu lihu nepoužívá, avšak v některých státech např. ve Francii, kde byly vybudovány kombináty cukrovarů s lihovary, se vyrábí líc z difúzní šťávy (v kampani) a ze zakonzervované těžké šťávy v průběhu roku [1].

Po kvalitativní stránce obsahuje prakticky tytéž látky jako melasa. Průměrný obsah cukru v cukrovce je kolem 16 %, hektarové výnosy jsou průměrně 47 tun, tzn., že produkce lihu z 1 ha by mohla být až 47 hl, což je z hlediska celkové produktivity vysoký údaj, porovnáme-li hodnoty s jinými surovinami. Podstatnou nevýhodou jsou i vyšší výdaje na pěstování a vysoký obsah nezpracovatelného odpadu [4].

1.1.3 Melasa

Melasa, je u nás prioritní surovinou v průmyslových lihovarech, vzniká jako vedlejší produkt při výrobě cukru z řepy po několikanásobném vykrystalování hlavního podílu cukru z řepné nebo třtinové šťávy [3]. Je to viskózní, hustá, tmavá kapalina s charakteristickou vůní a většinou alkalickou reakcí. Vzhledem k vyprodukovanému množství ji můžou považovat za druhý cukrovarský výrobek. V naší republice se setkáme prakticky pouze s melasou řepnou. Z hlediska jejich vzniku v cukrovarnickém technologickém procesu se dělí řepné melasy na surovárenské, rafinérské, smíšené a eventuálně afinádní. Surovárenská, produkt po první krystalizaci cukru, je bohatší na živiny, má větší podíl růstových látek. Rafinérská obsahuje některé látky brzdící kvasný proces, odlišuje se především nižším obsahem dusíkatých látek a vzhledem několikanásobnému tepelnému zpracování má tmavší barvu. Vliv růstových látek na kvašení se projeví hlavně při kontinuálních fermentačních postupech [4, 5]. Na obrázku 1 si můžeme všimnout barvy a konzistence melasy [6].



Obr. 1. Melasa

Řepná melasa

Hlavními složkami řepné melasy jsou cukry (sacharosa) zhruba 50 %, necukry 30 %, a voda 18 až 20 % [5]. Kromě sacharosy obsahuje melasa vždy malé množství invertního cukru. U vadných melas napadených kyselinotvornými bakteriemi množství stoupá a může dosáhnout až 20 %. Přesáhne-li jeho obsah 1 %, stává se melasa podezřelou, že je infikovaná bakteriemi. Její závadnost spočívá v tom, že může obsahovat pro kvasinky toxické množství kyseliny máselné a propionové. Dalším cukrem v melase je rafinosa, obsažena již v cukrovce

a z ní přechází do melasy. Lihovarskými kvasinkami je zkvasitelná jen z 1/3 [3]. Z necukrů tvoří anorganické soli 10 až 12 % podílu melasy, zbytek pak organické látky. Organické látky jsou tvořeny dusíkatými látkami, betain představuje 50 % veškerého dusíku melasy, rozkladné produkty bílkovin (amidy a aminokyseliny) a bezdusíkatými sloučeninami, které lze rozdělit na organické kyseliny a jejich soli, slizovité látky, bezdusíkatá barviva a některé další látky. Z pohledu lihové fermentace je sledován obsah dusíkatých látek (celkový obsah dusíku činí 1,0 - 1,6 %), kvasinky využijí zhruba jen polovinu, a obsah fosforu, kterého bývá v melase jen asi 0,06 %. Nejvýznamnější dusíkaté látky v melase jsou aminokyseliny, z nichž kyselina asparagová a glutamová jsou důležité pro výživu kvasinek. Naopak betain je pro kvasinky zcela bez užitku, při jeho termickém rozkladu vznikají aminy. Takové množství na výživu kvasinek nestačí, a proto se musí melasové zápary přiživovat [2, 5]. U řepné melasy s 50 % cukru lze ze 100 kg dosáhnout až 31 l etanolu [4].

Třtinová melasa

Mnohé státy využívají k výrobě lihu třtinovou melasu. Vzniká podobně jako řepná melasa při oddělování cukru od matečných louhů, které se získaly svářením a čířením surové šťávy ze třtiny. Pevný odpad po zpracování třtiny se nazývá bagasa, která v poslední době nachází použití jako surovina pro fermentační průmysl (po předchozí hydrolyze). Třtinová melasa obsahuje 50 - 55 % celkového cukru, 30 % necukrů, 15 - 20 % vody a má pH 5. Celkový cukr je tvořen především sacharosou, ale též významným podílem monosacharidů (glukosa a fruktosa). Typický pro třtinovou melasu je vyšší obsah invertního cukru až 20 % [5].

1.2 Suroviny škrobnaté

Suroviny škrobnaté obsahují polysacharid škrob, který je nutno nejdříve přeměnit na zkvasitelný cukr. Z tohoto důvodu je výroba lihu ze škrobnatých surovin po stránce technologické složitější a po stránce ekonomické nákladnější. Jako suroviny sem řadíme brambory, obiloviny a zbytky z potravinářského průmyslu [1].

1.2.1 Brambory

Brambory jsou hlavním představitelem této skupiny, lze z nich vyrobit kvalitní neutrální alkohol. Hlíza brambor obsahuje průměrně 18 % škrobu v závislosti na odrůdě, jsou však problémy s jejich skladováním [2]. Byly u nás dříve hlavní lihovarskou surovinou.

Jsou plodinou, která má vhodné zastoupení všech látek, příznivě ovlivňujících kvašení. Z bezdusíkatých látek kromě škrobu, glukosu asi 0,2 %, sacharosu asi 0,3 %, vlákninu asi 1 %, tuk 0,15 %, pektiny a pentosany (0,7 až 1 %), dusíkatých látek asi 2 %. V namrzlých bramborách stoupá obsah cukrů přes 3 % [3].

1.2.2 Obiloviny

Obiloviny jsou v řadě států hlavní lihovarskou surovinou. Pro zpracování obilí na líh je nejdůležitější obsah bezdusíkatých zkvasitelných látek, tj. škrobu. Se stoupající hektolitrovou hmotností a absolutní hmotností 1000 zrn se zvyšuje zpravidla i obsah škrobu a tím i alkoholové výtěžky. Nejvíce se zpracovává kukuřice a žito. U nás v minulosti pro výrobu lihu bylo zpracováváno pouze "havarované" obilí (např. znehodnocené houbou *Claviceps purpurea*) [2, 4].

V současné době je hlavní surovinou **pšenice** (technické odrůdy Trane, Astella, Rexia), která obsahuje v závislosti na kultivačních podmínkách kolem 65 - 71 % škrobu, 14 % bílkovin, 1,8 % tuku, 68 % extraktivních bezdusíkatých látek [4].

Dále **žito**, záparsy ze žita jsou však oproti pšenici viskóznější, což je způsobeno vyšším obsahem pentosanů (kolem 10 %). V posledních letech se s úspěchem používá kříženec žita a pšenice - **tritikale**. Jeho odrůdy jsou snadněji zpracovatelné lihovarským způsobem a dávají dobré výtěžky lihu [4].

Ječmen a oves se k výrobě lihu používají poměrně zřídka. Jejich nevýhodou je vysoký podíl pluch v zrně, které způsobují problémy při kvašení (tvorba silných dek na povrchu kvasu) [2].

Kukuřice se pěstuje hlavně v teplejších krajinách. Je jednou z nejvýkonnějších rostlin z hlediska hektarových výnosů. Obsahuje až 5 % tuku, což příznivě ovlivňuje i vlastní kvašení. Obsah škrobu je nad 65 % [2].

V některých státech se k výrobě lihu používá rýže, čirok, jehož semena obsahují až 70 % škrobu, cassava až 40 % škrobu, sladké brambory (bataty) obsahují až 65 % škrobu v sušině, ve formě hlíz nebo sušeného prášku [2].

K výrobě lihu se dají využít i **odpady ze zpracování obilí a brambor**, např. kalové škroby (drobná škrobová zrna z odpadních vod a různé podřadné škroby) a zadní škroby, zbytky ze zpracování brambor – černý odpad (po loupání brambor, obsahuje 4 - 6 % škrobu) [1, 2].

1.3 Suroviny obsahující další polysacharidy

Inulin je polysacharid obsahující fruktosu. Tato látka se vyskytuje v topinamburech a v čekance. Hlízy topinamburů obsahují v průměru kolem 16 % inulinu, dále pak menší množství D-fruktosy a levulinu. Hektarový výnos hlíz může dosáhnout až 30 tun. Štěpení inulinu je snazší než škrobu, zajišťuje ho enzym inulinasa obsažený přímo v hlízách v době vegetace [4].

1.4 Lignocelulóznové suroviny

Nadějným a stále ne zcela doceněným zdrojem sacharidů jsou lignocelulóznové suroviny, protože vyžadují razantnější předúpravu. Jsou to sulfitové výluhy a hydrolyzáty dřeva [2].

Sulfitové výluhy

Vznikají při výrobě celulosy, kdy působením kyseliny siřičité se hydrolyzují hemicelulosy dřeva na monosacharidy. Z výluhu je nutno odstranit SO_2 , upravit pH, doplnit živiny a zakvasit [1].

Hydrolyzáty dřeva

Získáme štěpením celulosy za tlaku slabou kyselinou sírovou za vzniku glukosy. Této suroviny se hojně používá k výrobě etanolu v Rusku [1].

2 VÝTĚŽNOST

Podle Gay-Lussacovy rovnice lze vypočítat teoretické výtěžky z jednotlivých sacharidů. V praxi se však teoretické výtěžky nedocílí, neboť při kvašení vznikají vedle etanolu vedlejší produkty jako jsou organické kyseliny, glycerín, vyšší a nižší alkoholy, škrob se v plném rozsahu nez cukří, část cukru neprokvásí, malá část lihu se odpaří nebo při styku se vzduchem oxiduje na acetaldehyd. Proto jsou praktické výtěžky vždy nižší než teoretické a udávají se v rozmezí 54 - 56 l absolutního alkoholu pro glukosu, 58 - 60 l pro sacharosu a 60 - 66 l pro škrob ze 100 kg substrátu [7]. Alkoholické výtěžky u nejčastěji používaných surovin udává tabulka 1 [8].

Tab. 1 Alkoholické výtěžky

Surovina	Výtěžnost cukru [%]	Ze 100 kg suroviny získáme [l]
Melasa	50	31,0
Brambory	18	11,5
Žito	50	32,0
Ječmen	58	37,1
Pšenice	65	41,6
Kukuřice	60	38,4

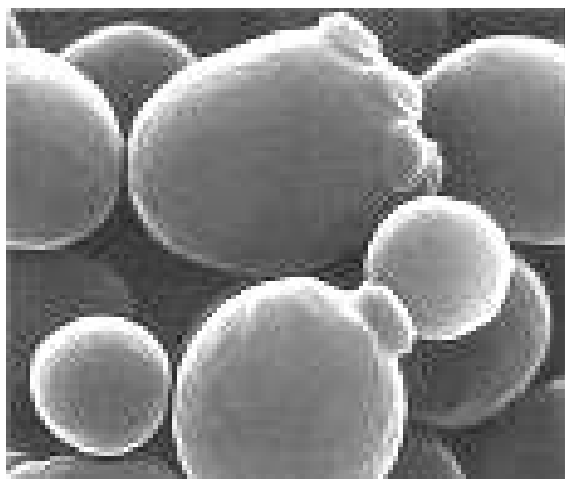
Alkoholovou výtěžností, která charakterizuje vhodnost suroviny pro výrobu lihu, se považuje množství vyrobeného lihu vyjádřeného v litrech (stupních) absolutního 100 % lihu vztáhnutého na 100 kg zpracované suroviny (případně sušiny) [1].

3 MIKROORGANISMY V LIHOVARNICTVÍ

Etanol mohou produkovat ve větším nebo menším množství nejrůznější mikroorganismy, v praxi se však uplatňují pouze kvasinky, a to z důvodu technologických i ekonomických. Kvasinky zaručují při optimálním vedení kvasných pochodů maximální výtěžnost, produkt je velmi čistý, standardní jakosti a odpovídá svým charakterem zpracované surovině. Mnohé z nich jsou pro své vlastnosti využívány v biotechnologiích [1].

Rod *Saccharomyces* představuje bezpochyby ekonomicky nejvýznamnější skupinu mikroorganismů používaných v průmyslu [9]. Nejpoužívanějším druhem je *Saccharomyces cerevisiae* jsou to fakultativně anaerobní mikroorganismy, což znamená, že jejich primární činností je fermentace (kvašení), ale jsou schopny růst a využít sacharidy (případně i jiné uhlíkaté substráty) i za aerobních podmínek. Hlavním jejich metabolitem je etanol tvořený v buňce z monosacharidů, které byly transportovány z média do buňky a následně řadou enzymových reakcí jsou přeměněny na konečný produkt etanol a oxid uhličitý [4]. *S. cerevisiae* fermentuje glukosu, manosu, fruktosu, galaktosu, maltosu, sacharosu, maltotriosu a z jedné třetiny rafinosu. Vyznačují se vysokou rychlostí tvorby etanolu, vysokou tolerancí k etanolu a nízkou produkcí vedlejších metabolitů [9]. *Saccharomyces cerevisiae*, snímek z elektronového mikroskopu je zobrazen na obrázku 2 [13].

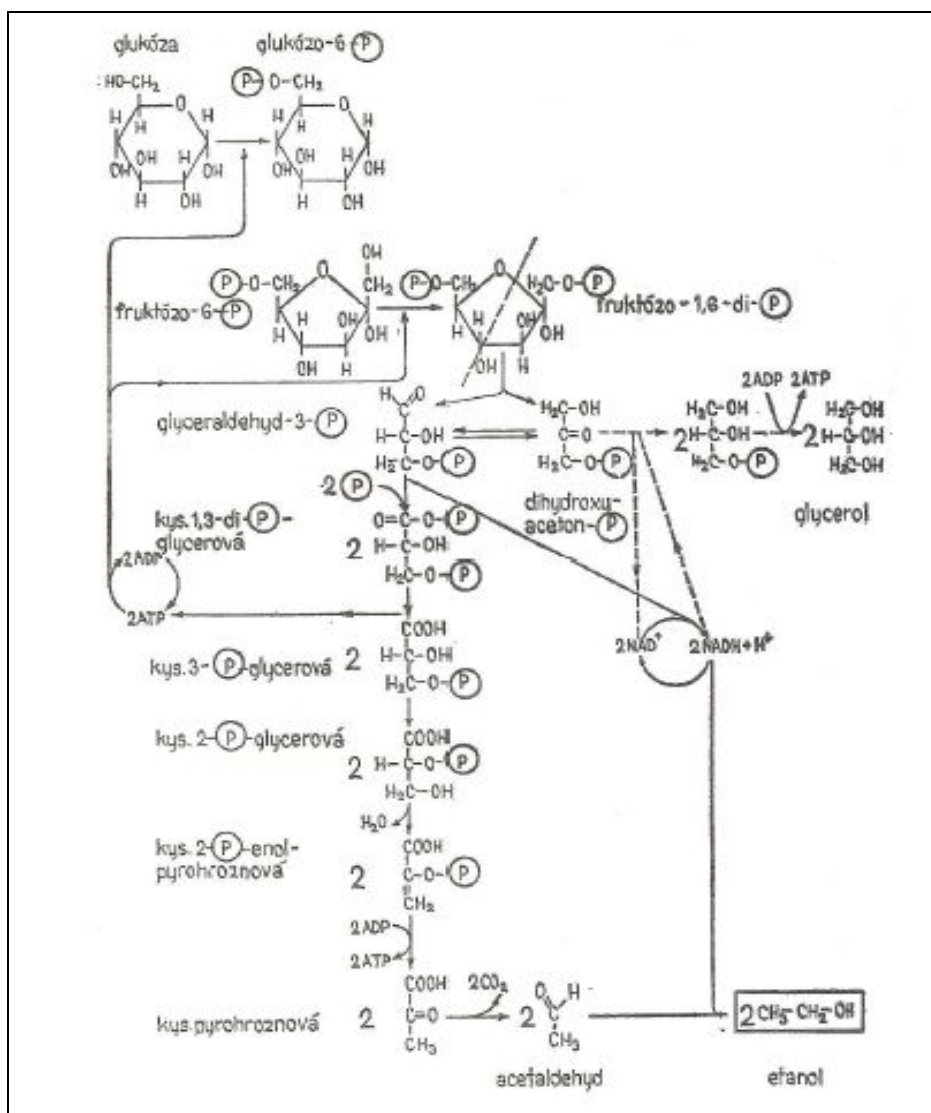
Pro rod *Saccharomyces* je charakteristický vegetativní způsob rozmnožování probíhající multilaterálním pučením, buňky jsou sférické, elipsoidní, cylindrické nebo protáhlé. Výjimečně je vytvářeno pseudomycelium, vegetativně rostoucí buňky jsou převážně diploidní, nebo polyploidní. Méně časté je pohlavní rozmnožování vedoucí k tvorbě askospor [9].



Obr. 2 *Saccharomyces cerevisiae*

Při alkoholovém kvašení za anaerobních podmínek je glukosa nejprve odbourávána v procesu glykolýzy na pyruvát, který je dekarboxylován a vzniklý acetaldehyd redukován na etanol (tzv. *Embden-Meyerhof-Parnasova* (EMP) dráha) [12]. Kvasinky se předem namnoží v propagační stanici nebo používáme pekařské droždí [2]. Schéma etanolového kvašení je uvedeno na obrázku 3 [11].

Producenty etanolu mohou být i bakterie, slibnou bakterií je *Zymomonas mobilis*, která má v porovnání s kvasinkami rychlejší metabolismus, nižší nároky na výživu, fermentace může probíhat za vyšších teplot. Glukosa je metabolizována pomocí Entner-Doudoroffovy dráhy, kde klíčovým meziproductem je 2-keto-3-deoxy-6-fosfoglukonát (KDPG) [2].



Obr. 3 Etanolové kvašení

3.1 Výživa kvasinek

Kvasinky mohou pro výstavbu buňky použít pouze látky, které projdou buněčnou membránou. Pokud zápara neobsahuje dostatek živin, nemůže dojít k patřičnému pomnožení kvasinek, které se řídí živinou, zastoupeno v minimu [7].

Pro optimální průběh kvasných pochodů i pro stimulační účinek, jako základní složka buněčného těla, jsou velice důležité dusíkaté látky, jejichž rozkladem nebo přeměnou vznikají sloučeniny, které mohou podle charakteru buď kladně nebo záporně ovlivnit jakost finálního výrobku [7].

Pro výživu kvasinek přicházejí v úvahu štěpné produkty bílkovin, obzvlášť peptidy, amidy a aminokyseliny. Při dostatečném množství sacharidů mohou kvasinky využít také minerální dusík, amoniak a jeho soli, které je však nutno přesně dávkovat, neboť v přebytku difundují sice do buňky, ale nemohou být využity [7].

Uhlík pro stavbu buňky si kvasinky získávají také z organických dusíkatých látek. Při nedostatku tohoto zdroje mohou za přítomnosti minerálních solí a kyslíku využívat také uhlík ze sacharidů, pentosanů, organických kyselin i etanolu [7].

Z minerálních látek ovlivňujících látkovou výměnu kvasinek jsou důležité hlavně ty, jež jsou zastoupeny ve větším množství v kvasničném popelu (P, K, Mg, Ca). Velký význam má přítomnost stopových prvků, z nichž některé jako součást enzymů, jsou důležitými stimulatory kvasinek (Mn, Cu, Fe) [7].

3.2 Činitelé ovlivňující činnost kvasinek

Mezi činitele ovlivňující činnost kvasinek a tím i průběh kvašení se řadí teplota, koncentrace substrátu, pH, přítomnost stimulačních a inhibičních látek [1].

Optimální **teplota** při kvašení se pohybuje od 27 - 29 °C, max. do 30 °C, optimum pro množení a růst kvasinek od 32 - 34 °C. Při vyšší teplotě se kvasinky oslabují. Smrtící teplota je kolem 55 °C a její vliv je zesilován koncentrací alkoholu [7].

Koncentrace substrátu se má pohybovat v rozmezí 16 - 18 % cukru. Při vyšší koncentraci se prodlužuje doba kvašení a zvyšuje se množství neprokvašeného cukru [1].

pH prostředí se má s zřetelem na enzymatický systém kvasinek pohybovat od 4,6 - 5,6. Působí-li vyšší pH delší dobu, aktivují se proteolytické enzymy a dochází k rozkladu vlastní bílkoviny, nižší hodnoty pH snášejí kvasinky velmi dobře, čehož se využívá jako ochrany proti kontaminantům [7].

Z **inhibičních látek** je nutno uvést stopy těžkých kovů (As, Pb, Zn), kyselina máselná (již při koncentraci 0,0005 %, dále propionová (0,001 %) a octová (0,15 %), negativně působí sám o sobě alkohol. Při koncentraci 4 - 5 % obj. alkoholu se kvasinky přestávají množit, nad 17 % obj. kvašení ustává [1].

3.3 Nežádoucí mikroorganismy

V lihovarech se setkáváme také s jinými mikroorganismy, a to zejména v lihovarských záparách, jež jsou vhodným substrátem nejen pro kvasinky, ale i pro jiné mikroorganismy, které při výrobě škodí a jsou příčinou nežádoucí kontaminace. Nejčastěji se setkáváme s bakteriemi, plísněmi a divokými kvasinkami [1].

3.3.1 Bakterie

Bakterie žijí z téhož substrátu jako kvasinky, jenže cukr nemění na líh, avšak na jiné zplodiny (těkavé kyseliny), které snižují nejen výtěžnost, ale tlumí či umrtvují kvasinky a brzdí činnost enzymu amylázy [1]. Do zápar se dostávají vodou, surovinou, sladem, ze vzduchu a z nedostatečně vyčištěných nádob a potrubí. Za zvlášť nebezpečné jsou pokládány bakterie spórotvorné a bakterie, které mají životní podmínky přibližně stejné jako kvasinky (teplota, pH). Při výrobě lihu se nejčastěji vyskytují bakterie mléčného, máselného a octového kvašení [7].

Bakterie mléčného kvašení, zejména divoké formy, produkují kromě kyseliny mléčné také těkavé kyseliny. Optimální teplota pro jejich činnost se pohybuje v rozmezí 40 - 50 °C. Za určitých podmínek mohou však působit příznivě, neboť vytvořením nízkého pH (pod 4,2) potlačují cizí, nežádoucí mikroflóru [1].

Bakterie máselného kvašení tvoří velmi rezistentní spory, vyskytují se nejčastěji při zpracování havarovaného obilí, vadné melasy nebo nahnílých brambor. Rozkládají cukr na kyselinu máselnou (je jedem pro kvasinky), CO₂ a vodu a jako vedlejší produkty vznikají kyselina octová, propiónová a vyšší alkoholy. Snižují tedy výtěžnost lihu [1].

Bakterie octového kvašení oxidují líc na kyselinu octovou popř. až na CO₂ a vodu. Patří při výrobě lihu mezi obávanou infekci, hlavně ve fázi dokvašování. Jelikož tvoří spóry, ničí se snadno vyšší teplotou [5].

3.3.2 Plísně a divoké kvasinky

Pokud se v lihovaru objeví **plísně**, je to zpravidla známkou zanedbávané čistoty a nedostatečné údržby lihovarského provozu. Jelikož vyšší teplotou se ničí, nejsou pro výrobu tak nebezpečné. Vyskytují se hlavně při dokvašování. Hotovému výrobku udělují nepříjemnou chuť i vůni a snižují výtěžnost [1].

Zdrojem **divokých kvasinek** jsou vody, vzduch a často také zelený slad. Vyskytují se hlavně ve fázi dokvašování, tvoří v záparách povlak (křís), oxidují etanol až na vodu a CO₂ (*Candida*, *Pichia*) [7].

3.3.3 Ochrana před kontaminanty

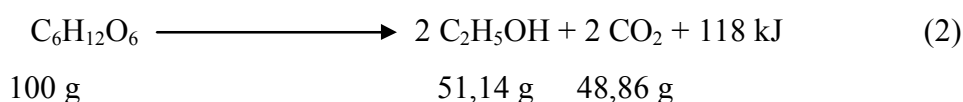
Ochrana před nežádoucími mikroorganismy může být buď **aktivní**, nebo **pasivní**. Pasivní ochrana spočívá v omezení možnosti růstu, kdežto aktivní ochranou se rozumí přímé ničení mikroorganismů účinnými prostředky. Pasivní ochrana je přirozenější, levnější, méně drastická a většinou životní projevy a růst žádoucích mikroorganismů nebrzdí [7].

V kvasném průmyslu se vede boj proti kontaminantům několika způsoby. V prvé řadě tím, že dbáme na čistotu, dále vysokou teplotou při sterilizaci a paření, nízkou teplotou při zakvašování zápary, jež růst kontaminantů brzdí. V krajním případě se používají antiseptické přípravky, které škodlivou mikroflóru ničí nebo snižují účinek jejího působení (formalín, SO₂, H₂SO₄, NaOH) a chlórové vápno, které se však pro silné korozní účinky používá jen v krajním případě [7].

Z novějších způsobů se používají ultrafialové paprsky a radioaktivní záření. Ultrafialové paprsky mohou však při nízkých dávkách růst bakterií stimulovat [7].

4 BIOCHEMISMUS LIHOVÉHO KVAŠENÍ

Kvasný neboli fermentační způsob výroby etanolu je založen na působení enzymů mikrobiální buňky (většinou buněk některých kvasinek) v procesu, kterému se říká lihové kvašení. Jde o proces, který probíhá převážně bez přístupu vzduchu (anaerobně), i když nejde v případě kvasinek o striktně anaerobní podmínky. Mírné provzdušnění kvasného média, hlavně na začátku fermentace, je příznivé pro potřebný nárůst buněk a jejich aktivitu. Při lihovém kvašení dochází k postupnému rozkladu sacharidů enzymy mikroorganismů a uvolňování energie, její menší část je fixována ve formě ATP, zbytek je přeměňován na teplo [2].



Při lihovém kvašení vzniká při rozpadu cukru působením enzymu kromě hlavních produktů (etanol, CO₂) celá řada vedlejších látek. Největší význam má glycerol, vzniká v první fázi kvašení, jeho tvorbu je možno ovlivnit podmínkami fermentace (pH, obsah siřičitanu, kultura kvasinek). Z vyšších jednosytných alkoholů jako hlavní součást přiboudliny jsou nejdůležitější isoamylalkohol, propylalkohol a butylalkohol. Přiboudlina vzniká převážně enzymovými pochody z aminokyselin přítomných v zápaře, žlutohnědě zbarvená tekutina, nepříjemného, ke kašli dráždícího zápachu; v surovém lihu jí bývá 0,10 - 0,50 %. Z dalších produktů jsou zastoupeny acetaldehyd, kyselina jantarová, mravenčí, mléčná a octová. Kromě glycerolu, kyseliny mléčné a jantarové jde vesměs o látky těkavé, které přecházejí do destilátu a ovlivňují jeho složení a kvalitu. Při výrobě lihu ze zemědělských surovin byl obsah metanolu zjištěn jen ve stopách, ve zřetelném množství se však nachází v pálenkách, kde vzniká enzymatickým rozkladem pektinu. Estery mohou vznikat extracelulárně, přičemž jejich vznik je vázán na druh kvasícího mikroorganismu. V koncentrovaném stavu mají zpravidla nepříjemný zápach; ve zředěném stavu udělují destilátu příjemné, pro jeho původ charakteristické aróma [1, 5].

5 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA ALKOHOLŮ

Alkoholy jsou deriváty uhlovodíků, které mají v molekule vázanou hydroxylovou skupinu -OH. Lze je formálně považovat za první stupeň oxidační řady uhlovodíků [14]. Běžně se vyskytují alifatické, alicyklické, aromatické a heterocyklické alkoholy, alkoholy primární, sekundární a terciární. Alkoholy jsou primárními i sekundárními vonnými a chuťovými látkami potravin rostlinného a také živočišného původu. Jako aromatické látky se uplatňují hlavně volné primární alkoholy a jejich estery, zejména u ovoce a alkoholických nápojů. Z alkoholů se uplatňují metanol, etanol, vyšší alkoholy (přiboudlina), z aminokyselin vznikají rovněž některé aromatické a heterocyklické alkoholy [15].

5.1 Charakteristika a vlastnosti etanolu

Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) je jednomocný nasycený alkohol vázaný v různých esterech (silice, koření aj.) a v malém množství běžnou složkou aróma mnoha potravin. Volný etanol vzniká spolu s oxidem uhličitým a mnoha minoritními látkami jako hlavní produkt při anaerobním odbourávání cukrů kvasinkami tzv. alkoholovém kvašení. Vyskytuje se proto ve všech alkoholických nápojích a přítomen je také v těstě a ve všech kysaných mléčných výrobcích. Vzniká rovněž při intramolekulárním dýchání a lze jej vyrobit synteticky katalytickou hydratací etylenu [15]. V čistém stavu představuje čirou, lehce pohyblivou kapalinu, ostré, ale ve zředění příjemně vůně a pálivé chuti. Je neomezeně mísitelný s vodou, přičemž dochází ke kontrakci (smršťování) objemu. Je snadno zápalný a proto klasifikován jako hořlavina 1. třídy. Měrná hmotnost činí $0,79425 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, bod varu $78,3 \text{ }^\circ\text{C}$, mrzne při teplotě $-112 \text{ }^\circ\text{C}$. Ve směsi s vodou vykazuje vyšší bod varu, který odpovídá přesně složení kapaliny; hoří slabě svítivým, nečadivým plamenem, přičemž se rozkládá na vodu a CO_2 a uvolňuje se energie $29,56 \text{ MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$. Je dobrým rozpouštědlem pro látky ve vodě nerozpustné jako pryskyřice, mastné kyseliny atd. Při neúplné oxidaci se mění na acetaldehyd, při úplné na kyselinu octovou. Pro nižší i vyšší organismy je koncentrovaný alkohol prudkým jodem. Zředěný alkohol je při mírném používání pro lidský organismus neškodný, osvěžuje a je zdrojem energie [1]. Etanol je vysoce hodnotné ekologické palivo pro spalovací motory, má antide-tonační vlastnosti. Jeho nedostatkem je schopnost vázat vodu a působit tak korozi motoru, což lze odstranit přidáním vhodných aditiv (antikoročních přípravků) [14].

6 VÝROBA PRŮMYSLOVÉHO LIHU Z MELASY

Výchozí surovinou pro výrobu průmyslového lihu je u nás téměř výhradně melasa. Fermentační proces není zaměřen na tvorbu sensoricky látek, ale především na výtěžnost a množství alkoholu [1].

Technologický proces lze rozdělit do následujících výrobních fází:

1. nákup, přejímka, skladování, čerpání a úprava melasy,
2. příprava fermentačního média (zápary),
3. zakvašování a kvašení zápary,
4. destilace zralé zápary [7].

6.1 Nákup, přejímka, skladování, čerpání a úprava melasy

Melasu nakupují lihovary v cukrovarech na základě hmotnosti a obsahu cukru, prodejní melasa má mít sušinu 80 °Bg¹ a obsahovat 50 % sacharosy [1].

Při přejímání se odebírá vzorek trubkovým vzorkovačem, rozboru uvádějí sacharizaci, polarizaci a alkalitu. Při stanovení polarizace nesmí být rozdíl mezi analýzou cukrovaru a lihovaru větší než 0,6 % hm [5].

Melasa se v lihovarech skladuje v zásobnících tzv. melasnících, jsou to železné, válcovité nádoby o objemu 20 až 30 tisíc hl. Dno nádob musí být přístupné, ve středu horního víka je odvzdušňovací otvor. Dále je melasník opatřen plovákovým ukazatelem obsahu melasy, jímkami na teploměry, aj. Melasa určená ke zpracování na líc by měla být 6 měsíců odleželá, čímž se oddělí suspendovatelné látky a na povrchu se vyloučí pěna. Na dně se usazují kaly, které by neměly přejít do fermentačního media [5].

Poté se přečerpává z melasníku do předlohových nebo manipulačních nádrží, ve kterých se zředuje vodou asi na 56 °Bg, aby ji bylo možno snadno rozvádět. Při ředění se někdy provádí neutralizace kyselinou sírovou. Tepelná úprava a čiření melasy se v našich podmínkách neprovádí (odstraní se tak těkavé inhibiční látky jako SO₂, mastné kyseliny apod.).

¹ Ballingovy sacharometrické stupně (°Bg, °S) udávají, kolik gramů cukru (nebo veškerého extraktu) je obsaženo ve 100 g tekutiny. Tyto stupně tedy udávají hmotnostní (váhová) procenta cukru (extraktu), neboli zdánlivou sušinu roztoku [16].

Při zpracování značně kontaminovaných melas je nutno přidávat do zápary desinfekční prostředky (např. chlorové vápno) [5].

6.2 Příprava fermentačního média (zápary)

Zápara se připravuje v podstatě dvojitým způsobem, buď periodicky, nebo kontinuálně. Periodický způsob lze kombinovat současně s úpravou melasy. Melasa se nejprve ředí vodou na provozní koncentraci, provádí se úprava pH a přiživuje se. Okyselování přichází v úvahu pouze u řepných melas (trtinové melasy jsou kyselé). Nádrže, ve kterých se zápara připravuje, jsou opatřeny míchacím zařízením a stavoznaky, jsou instalovány výše než kvasné kádě (k transportu medií se využívá samospádu). Po vyprázdnění se nádrž musí vyčistit a dezinfikovat. Nevýhodou tohoto způsobu je diskontinuita, možnost pomnožení infekce apod. [1, 5].

Kontinuálně se připravuje melasa v různých zředovacích epruvetách, což jsou nádržky ve tvaru obráceného zvonu, do nichž spodem, přitéká roztok melasy, voda a kyselina. Kapalina se změnou směru toku a vířením v nádržce dokonale promísí a na vnitřním obvodu přepadá do záparového potrubí. Nastavení koncentrací se děje pomocí regulace průtoků medií, pH se upravuje regulací průtoku kyseliny a pomocí pH-metru. Jiný kontinuální způsob je založený na použití dlouhého, úzkého válce, do kterého na jednom konci proudí melasa, voda, kyselina, roztok živin a odpeňovací tuk (ve stanoveném poměru) a na druhém vytéká hotová sladká zápara. Uvnitř směšovacího válce jsou umístěny různé profilované přepážky, aby došlo k dobrému promíchání [5].

Obvykle se při kvašení používá dvou různých koncentrací zápary, slabší při zahájení kvašení (5 - 10 °Bg) a silnější při doplňování fermentoru během kvašení (15 - 20 °Bg). K okyselování se používá nejčastěji H_2SO_4 , která však tvoří s vápenatými sloučeninami těžko rozpustný síran vápenatý, který způsobuje inkrustaci trubek na odparkách a v destilačních kolonách. Proto se doporučuje střídat H_2SO_4 a HCl. Provádí se úprava pH na hodnotu 4,5 - 5 [1].

Melasa je pro některé technologické postupy deficitní na asimilovatelný dusík, ve všech případech pak obsahuje nedostatečné množství kyseliny fosforečné. Při klasickém způsobu kvašení se přidává fosfor i dusík, při vratné separaci kvasinek stačí zpravidla přidávat fosfor. Velmi obezřetné má být přiživování amonnými solemi, poněvadž při jejich nadbytku stoupá produkce kvasniční hmoty na úkor výtěžnosti lihu. Proto lze dávkováním dusíku do značné

míry regulovat rozmnožování kvasinek. Dusík se přidává ve sloučeninách, z nichž se může uvolnit jako NH_4^+ . Při výpočtu potřebného množství se vychází ze zjištění, že melasa obsahuje asi 1,6 % veškerého dusíku, z něhož je asi jen polovina asimilovatelného. Při přiživování fosforem vycházíme z předpokladu, že melasa obsahuje kolem 0,06 % fosforu, Sloučeniny fosforu jsou však jen částečně rozpustné a ze zjištěného fosforu je asi jen polovina metabolizovaná [3]. Pro přiživování zápar se dříve přidávaly organické živiny, nyní se výlučně používají anorganické soli, nejčastěji síran amonný (21 % N), hydrogenfosforečnan diamonný, neboli diamonfosfát (21 % N a 45 % P_2O_5) a výluh superfosfátu (16 % P_2O_5) [5].

6.3 Zakvašování a kvašení zápary

Pro zakvašování zápar se používá většinou recirkulace kvasinek a propagace kvasničné kultury se provádí pouze na začátku kampaně nebo při přerušení provozu [10]. Velké lihovary většinou vycházejí z vlastní kultury kvasinek, kterou si postupně napropagují v laboratoři a potom v provozní propagační stanici. Pro kultivaci se používá vysterilovaná zápara (její koncentrace se má pohybovat kolem 10 - 12 °Bg), která se naočkuje kvasničnou kulturou a postupně se rozmnožuje, přičemž se intenzivně větrá. Po naočkování a prokvašení klesne koncentrace na polovinu tj. na 5 - 6 °Bg. Připravený zákvas se pak napustí do kvasné kádě, kam se připouští postupně sladká zápara. Podstatný rozdíl mezi propagací a zákvasem spočívá v tom, že u zákvasu se nepracuje se sterilní záparou. Doplnění zápary po částečném prokvašení musí být co do množství a sacharizace takové, aby obsah alkoholu nepřekročil inhibiční hranici 10 %. Kvasinky v prokvašené zápaře při vysoké koncentraci alkoholu ztrácejí velmi rychle aktivitu, snadno sedimentují a podléhají autolýze [1, 5].

6.4 Způsoby kvašení a jeho průběh

V literatuře existuje velké množství různých způsobů kvašení. Zde budou uvedeny jen zásady těch hlavních [10]. Bioreaktory (kvasné kádě) nejsou konstrukčně nijak složité. Obvykle nejsou opatřeny vzdušněním. Dnes se používají již jen bioreaktory uzavřené z nerezavějící oceli s možností regulace teploty a pH [4].

6.4.1 Klasický vsádkový proces

Klasický vsádkový ("batch") proces je velmi jednoduchý, ale dosahuje jen nízkou produktivitou a delší dobu kvašení. Charakteristické je, že probíhá při stejném objemu zápary od začátku do konce [2].

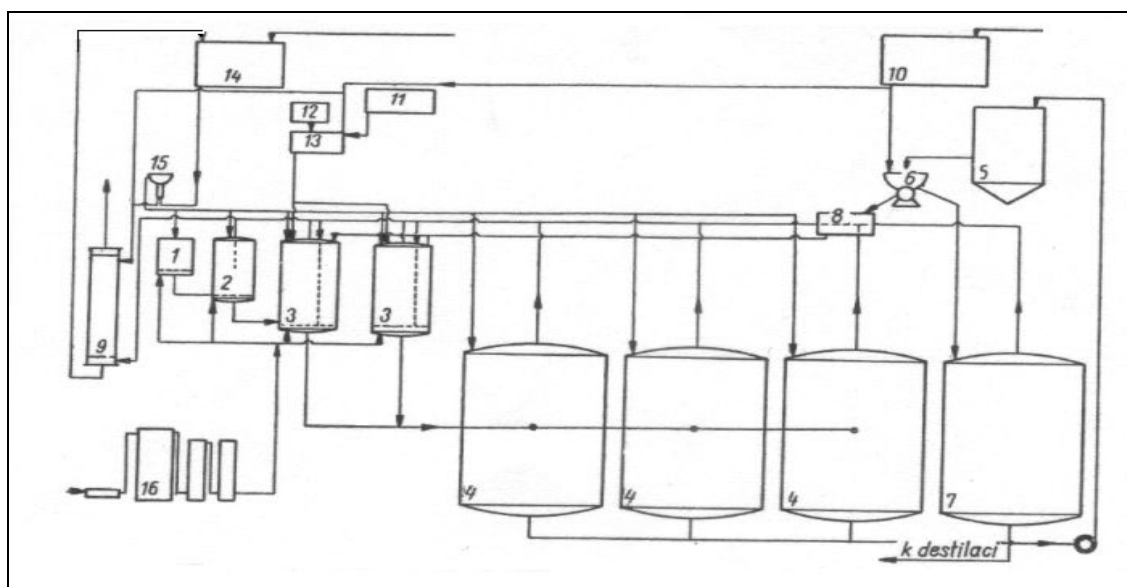
6.4.2 Přítokový způsob

Přítokový způsob ("fed-batch"), který souvisí s dávkovací strategií je v celosvětovém měřítku stále často využíván. Fed-batch proces u *S. cerevisiae* probíhá ve dvou fázích. V první dochází k růstu a produkci etanolu, v druhé je růst zastavený, avšak buňky produkují etanol dále [12]. Limitujícím faktorem je výsledná koncentrace etanolu, která se pohybuje v rozmezí od 10 do 12 % obj. Při dobrém vedení procesu může být produktivita systému kolem 5 kg etanolu/m³.h. Jedna šarže trvá 17 až 18 hodin. Tento způsob se snadno převede na semikontinuální. Kvašení se začíná s poměrně vysokou koncentrací buněk (kolem 30.10⁶ buněk v 1 ml) na melasovém mediu o koncentraci sušiny 35 - 38 °Bg. Další přítoky se realizují tak, aby zdánlivá koncentrace zápary nebyla vyšší než 12 - 13 °Bg. Čím vyšší bude koncentrace kvasinek, tím kratší bude doba fermentace. Nevýhodou tohoto způsobu je stálá nutnost přípravy zákvasu [4].

6.4.3 Způsob s recyklací kvasinek

Způsob s recyklací kvasinek (se zvratnou separací buněk) je znám od roku 1932 jako "Melle-Boinotův" způsob a patří mezi nejrozšířenější v melasovém lihovarství. Schéma kvasírny s vratnou separací kvasinek je zobrazeno na obrázku 4 [3]. Princip spočívá v tom, že se kvasinky z prokvašené zápary opakovaně použijí jako inokulum do nové fermentace, tím se ušetří cukr potřebný k syntéze biomasy a je možné pracovat od začátku s vysokou koncentrací buněk, což celkově zrychlí kvašení. Kvasničné mléko, získané odstředěním prokvašené zápary, se ošetří v preparační lázni, přidá se dvojnásobné množství vody a pH se kyselinou sírovou upraví na hodnotu 2,0 až 2,5 [4]. Tímto způsobem se kvasinky zbavují vrstvy koloidních látek (obalují buňky), dochází k aktivaci kvasinek a usmrcení kontaminujících bakterií. Během preparační doby, která činí 1 až 2 hodiny se lázeň mírně probublává (promíchává) oxidem uhličitým, odčerpávaným z kvasných kádí. Při provzdušňování vzduchem by totiž mohly kvasinky redukovat kyselinu sírovou až na sirovodík, který je kvasničným jedem [3, 5]. Zápara se odstřeďuje na konci fermentace, ne však celý objem kádě (neseparuje se

5 - 10 % obsahu), nýbrž pouze střední část obsahující kvalitní kvasinky. Svrchní a spodní část zápary se vede na destilaci. Po skončení preparace se suspenze kvasinek převede do kvasné kádě, kam se současně přidá tolik melasového roztoku, aby směs po promíchání měla koncentraci 12 - 14 °Bg [4]. V poslední době se místo odstředivek začínají užívat membránové mikrofiltrační jednotky (obvykle jde o tubulární keramické systémy), které zadržují buňky a tak jejich koncentrace prudce vzrůstá. Produktivita fermentace se výrazně zvyšuje. Kromě toho se značně sníží nebezpečí kontaminace, protože jde vlastně o uzavřenou smyčku [2].



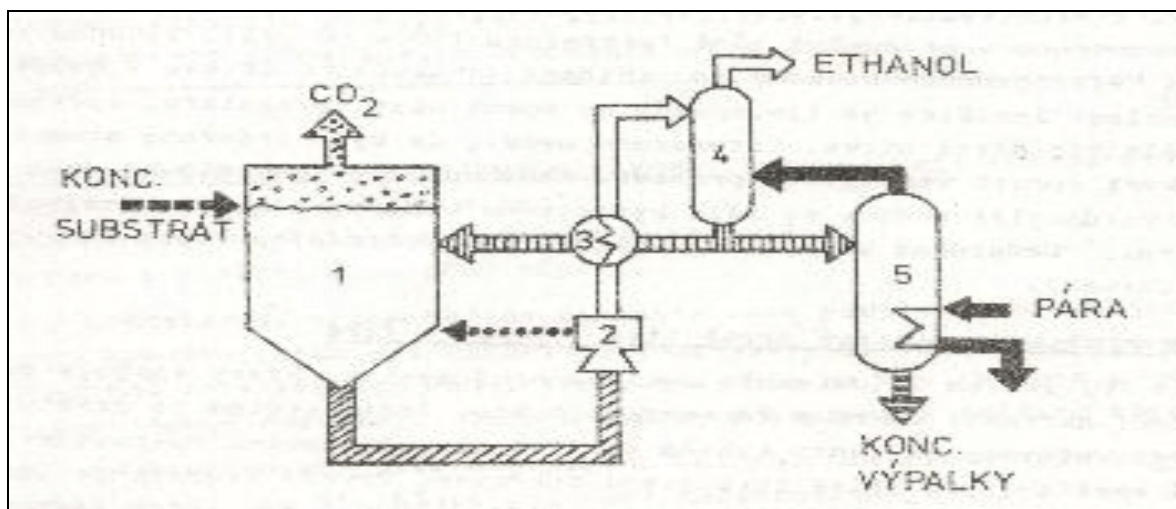
Obr. 4 Schéma kvasírny s vratnou separací kvasinek

1, 2 – kultivační nádoby; 3 – kvasné a preparační nádoby; 4 – kvasné kádě; 5 – napájecí nádrž pro odstředivku; 6 – odstředivka pro separaci kvasnic ze zápary; 7- sběrná kád' na odseparovanou záparu; 8 – sborník pro kvasničné mléko; 9 – pračka pro zachycování lihu z kvasných plynů; 10 – zásobník na vodu; 11 – nádrž na kyselinu sírovou; 12 – roztok živin; 13 – zřed'ovací nádrž na kyselinu sírovou; 14 – zásobník na melasu; 15 – zřed'ovací epruveta; 16 – filtrační stanice na vzduch.

6.4.4 Kontinuální způsoby lihového kvašení

Jsou charakterizovány nepřetržitým přítokem čerstvé a odtokem prokvašené zápary z fermentoru [10]. Existuje mnoho variant uspořádání a také i konstrukce nádob, které jsou dnes založeny na principech recirkulace nebo zádrže biomasy (včetně imobilizace kvasinek) a odstraňování etanolu z fermentoru, aby se snížil jeho inhibiční účinek a zvýšila se rychlost kvašení [2]. Vzhledem k přezkoumání názorů o roli kyslíku v lihovém kvašení je celkem

výhodné první reaktor mírně vzdušnit, tím dochází k mírnému nárůstu počtu buněk a udržování vysoké fermentační aktivity [4]. Uvedené směry jsou uplatňovány v systémech Biostil, Vakuferm, Alcon, Chemapec, Altech a dalších. Společnou nevýhodou všech kontinuálních postupů je velké riziko kontaminace [2]. Nové technologie dnes kontinuální způsoby preferují [4]. Schéma systému Biositil je uvedeno na obrázku 5 [5].



Obr. 5 Schéma Biositil

1 - fermentor; 2 - odstředivka; 3 - deskový výměník tepla; 4 - destilační kolona; 5 - odparek.

6.4.5 Nové způsoby kvašení melasových zápar

S perspektivou rozvoje lihovarského průmyslu se v posledních deseti až patnácti letech objevilo mnoho nových technologických variant, které využívají nových technik. Velké lihovary jsou řízeny počítači a vyznačují se jen velmi nízkým počtem pracovníků [4].

Z inovačních trendů je možno uvést:

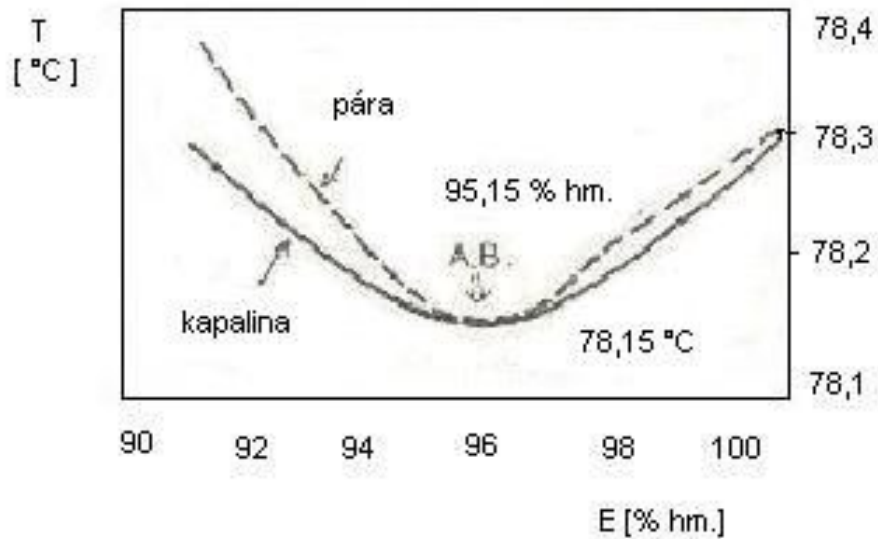
- Využívá se recyklace výpalků, kterými se ředí melasa. Snižuje se tak spotřeba vody a současně se zvyšuje koncentrace sušiny výpalků.
- Využívá se odpadního tepla především u destilace a odparek.
- Jsou zaváděny flokulující kvasinky nebo kvasinky imobilizované na levných nosičích, aby nedocházelo při kontinuálních procesech k jejich vyplavování.
- Je snaha zvýšit toleranci kvasinek k etanolu, aby se koncentrace etanolu ve zralé zápaře mohla zvýšit.
- Využívá se vysoké koncentrace buněk v reaktorech (mikrofiltrační moduly).

- Řeší se možnosti odseparovat etanol z média (pervaporace, reaktory pracující ve vakuu, pertrakce aj.), aby se snížil jeho inhibiční účinek a zvýšila se rychlost kvašení [4].

6.5 Destilace a rafinace

6.5.1 Destilace

Destilace je jediná separační metoda, která se používá v průmyslovém měřítku k oddělení etanolu ze zápar a dále pak i jeho čištění. Metoda je založena na různé těkavosti a tenzi par destilujících složek zápary. Víme, že voda vře za normálního tlaku při 100 °C, kdežto absolutní alkohol při 78,3 °C. Neplatí ovšem závěr, že při destilaci odejde napřed alkohol a pak až při zvýšení teploty nad 100 °C voda. Etanol je kapalina, která tvoří s vodou neoddělitelnou binární azeotropickou směs s bodem varu 78,15 °C, nižším než obě čisté látky. Takže podle teploty bodu varu odchází vždy směs alkoholových a vodních par. Takovou směs nelze rozdělit destilací za normálního tlaku [1, 4]. Závislost bodu varu na složení soustavy etanol-voda je znázorněn na obrázku 6 [5].



Obr. 6 Závislost bodu varu soustavy etanol-voda na složení

Na podkladě teoretických i praktických poznatků je známo, že zápary s obsahem 10 % objemu alkoholu nelze získat jednou destilací koncentrovanější alkohol než 51 % obj. a teprve další destilací získaného podílu je možno dosáhnout koncentrace vyšší. Proto se u destilačních aparátů využívá ke zvýšení alkoholu a čistoty destilátu rektifikace a deflegmace [1].

Rektifikace je proces, při němž se dosahuje silnějšího destilátu opakovanou destilací, přičemž se destilát zároveň čistí (rafinuje). Lze provádět buď opakovanou periodickou, nebo kontinuální destilací v kolonách s větším počtem propařovacích den [5].

Deflegmací se rozumí frakční kondenzace parní směsi. Ochlazením par zkapalní napřed složka méně těkavá (vodní pára), čímž se koncentruje lihový podíl v parách. Vzniklý kondenzát stéká zpět do destilační kolony a tvoří tzv. zpětný tok (reflux). Jelikož při deflegmaci dochází v lihových parách také ke snížení obsahu složek s nižší tenzí par, je spojena s částečnou rafinací destilátu [1].

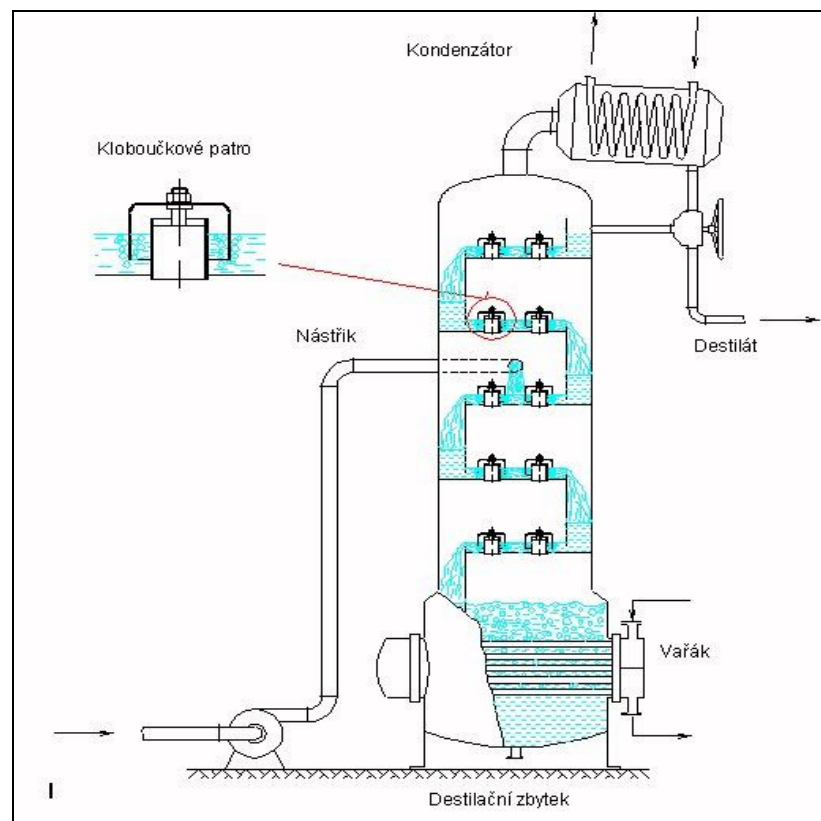
Při destilaci přecházejí do destilátu kromě etanolu i ostatní těkavé složky. Souhrnně se označují tyto nízko vroucí látky jako úkap nebo předek. S postupující destilací přechází do destilátu hlavní podíl tzv. jádro, které obsahuje minimální nebo u ovocných destilátů optimální množství těkavých složek. Ke konci destilace stoupá v destilátu obsah vysoko vroucích složek a jakost jímaného destilátu se plynule zhoršuje. Dominující složkou jsou vyšší alkoholy, zejména nepříjemně páchnoucí přiboudlina. Tato frakce se označuje jako dokap nebo zadek [7].

Destilační přístroje

K destilaci zralé zápary se používají u nás ve většině závodů kontinuální destilační přístroje jednokolonové či dvoukolonové. Ve dvoukolonovém systému dochází již částečně k rafinaci lihu. Konstrukčním materiálem je měď nebo nerezová ocel [5].

Jednokolonový destilační přístroj je 7 - 8 m vysoký válec o průměru 0,8 - 1,0 m, buď stejného průřezu anebo v rektifikační části zúžen. Ve spodní části přístroje je vařák, na jehož dno se přivádí pára, která udržuje obsah ve stálém varu. Výše odtahu je regulována přepařovacím hrdlem, kterým se odvádějí výpalky [1]. Schéma destilační kolony je zobrazeno na obrázku 7 [17].

Funkčním elementem kolony jsou provařovací dna, spojená přepadovými hrdly, určujícími výšku hladiny zralé zápary, která přepadá z výše položeného dna na dno níže položené. Dna jsou opatřena provařovacím zařízením, které umožňuje neustálý var zápary pomocí par vystupujících z nižšího dna. Na každém dnu se sníží obsah etanolu v kapalně fázi a zvýší se jeho obsah v prostupujících parách. Ze spodního dna přechází páry na výše položené dno hrdlem, které je kryto vroubkovaným kloboučkem, jenž rozptyluje prostupující páry do kapaliny. Vzdálenost mezi jednotlivými dny je 25 až 30 cm [1].



Obr. 7 Destilační kolona

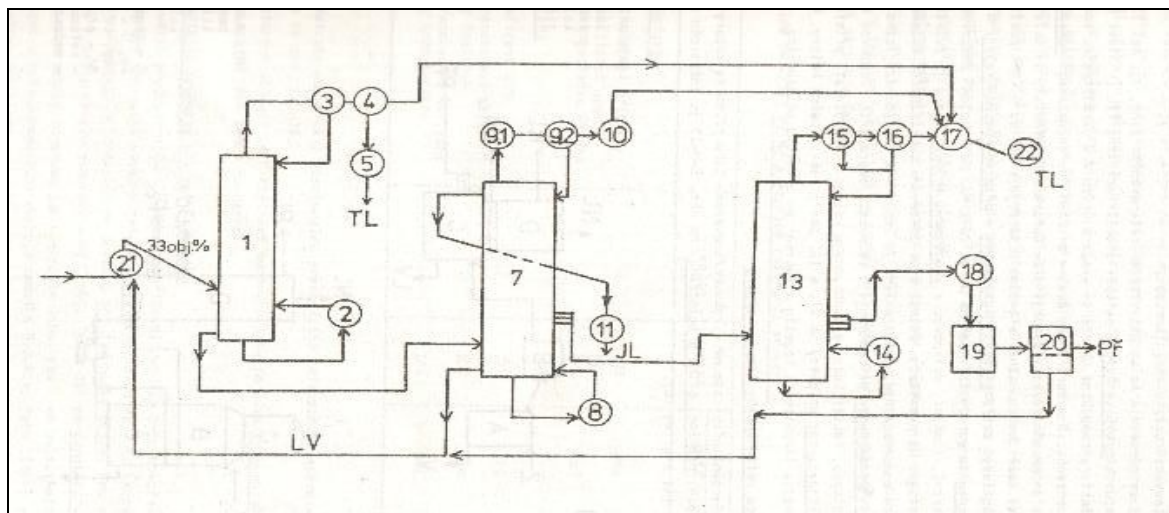
Zralá zápara se čerpá přes dvojitý deflegmátor, v němž se předehřívá lihovými parami, na vrchní zpravidla 13. dno záparové kolony, odkud je vedena přepadovými trubkami na níže položená dna. Vystupující páry se vedou buď přímo, nebo přes kondenzátor do rektifikační kolony, kde dochází k další koncentraci alkoholu a oddělování nečistot. Z rektifikační kolony se vedou páry do deflegmátoru, kondenzátoru a chladiče, kde se líh ochladí na teplotu 13 - 15 °C. Destilát nemá klesnout pod 90 % obj. (záleží na typu destilačního přístroje a počtu pater) a obsah lihu ve výpalkách nemá překročit 0,015 % [1].

6.5.2 Rafinace

Rafinace je definována jako odstranění doprovodných těkavých látek z lihu a je spojena i se zesilováním lihu (rektifikace) [5].

Surový líh přicházející ze záparové kolony se před rafinací ředí vodou na koncentraci kolem 30 % obj., aby se zvýšila rafinační účinnost [5]. Rafinace probíhá dohromady s rektifikací a provádí se na kontinuálních aparátech, které jsou složeny z 3 až 6 kolon (epyratér, rafinační a lutrová kolona, dokapová kolona, akumulční kolona, finální kolona). Pro správnou funkci rektifikační kolony má význam správné nastavení koeficientu zpětného toku. Surový líh se pro některé technické účely denaturuje předepsanými složkami. Jedná se o směs tří až čtyř chemicky nedefinovatelných látek [2].

Starší destilační přístroje vycházejí velmi často z rafinačního přístroje Barbet, který je zobrazen na obrázku 8 [5]. První kolona se nazývá úkapová (epyratér), druhá kolona je kolona rafinační s lutrovou, případně se často tato soustava doplňuje kolonou dokapovou. V hlavě rafinační kolony se hromadí aldehydy a rafinovaný líh se proto odebírá až na 5. až 8. patře od shora. Přiboudlina se odděluje jako vrchní vrstva dvoufázového systému na patře, kde koncentrace alkoholu je již nízká. Spodní část rafinační kolony se nazývá lutrová kolona. Z horních pater všech kolon se odvádí po kondenzaci líh technický [2].



Obr. 8 Barbetův rafinační přístroj (novější verze)

1 – úkapová kolona; 2,8,14 – vařák; 3,9,1,9,2,15,16 – deflegmátor; 4,10,17 – kondenzátor; 5,11,22 – chladič; 7 – rafinační kolona s kolonou lutrovou; 13 – dokapová kolona; 19 – pračka na přiboudlinu; 20 – dekantér na oddělení vody od přiboudliny; 21 – směšování lutrové vody (LV) se surovým alkoholem; JL – jemný (rafinovaný) líh; TL – technický líh; Př - přiboudlina; Do – dokap.

Nové rafinační přístroje jsou založeny na využití tlakového spádu v kolonách, principu hydroselekcce (přídavek vody z rektifikační kolony do hydroselekční kolony) a jsou zcela řízené počítačovými systémy. Přímou parou se vyhřívá jen hydroselekční a rektifikační kolona. Velké lihovary mají rafinační systémy, které vycházejí přímo ze zápary. Spotřeba páry (0,9 MPa) se sníží až na 1,5 - 2 kg.l⁻¹ etanolu [2].

6.5.3 Lihovarské výpalky a jejich zpracování

Melasové výpalky, je to zbytek po oddestilování lihu ze zápary, patří k nejvýznamnějším odpadům lihovarského průmyslu a to nejen kvůli jejich množství (získá se jich téměř desetinásobek objemu vyrobeného lihu), ale i dost vysokému obsahu organických a anorganických látek [4]. Výpalky odcházející z destilačního přístroje mají obsah sušiny 8 až 12 %. Obsahují jednak veškeré nezkvašené a neutilizované látky melasy, dále netěkavé látky a metabolity lihového kvašení (glycerol, jantarovou kyselinu), sloučeniny s vyšším bodem varu vracené do výpalků zpětným tokem, kvasinky, jejichž množství závisí na použité technologii. Použití, díky vyššímu množství solí se nehodí k přímému zkrmování, ale po odstranění solí, hlavně draselných by je bylo možné jako krmivo použít [5]. Dříve se využívaly na výrobu potaše, případně kyanidů. Dnes se u nás používají po zahuštění jako kapalné draselné nebo po úpravě jako N-P-K hnojivo. Lze je velmi dobře přidávat do methanizačních komor, kde zvyšují obsah methanu. V řídkém stavu je nelze dlouho skladovat, podléhají snadno zkáze, musí se zahušťovat na tzv. odpařovacích stanicích na 30 - 40 % sušiny [4].

7 KVALITATIVNÍ POŽADAVKY NA FERMENTAČNÍ LÍH

Surový líh vytékající z destilační kolony musí při senzorickém posuzování vyhovovat těmto požadavkům, být čirý, bez sedlin a zákalu, přípustné jsou mechanické nečistoty, které během dvou hodin klesnou na dno, bezbarvý až slabě nažloutlý, vůně a chuť má být charakteristická pro použité suroviny [18].

Pro potravinářské účely lze použít pouze líh kvasný rafinovaný, který se nyní vyrábí ve dvou jakostních druzích jemný a velejemný. K jeho výrobě se používá surový líh [1].

Rafinovaný líh jemný a velejemný musí vyhovovat těmto požadavkům, čirá tekutina, bez zákalu, opalescence, sedliny, mechanických a jiných nečistot. Vůně a chuť charakteristická po etanolu, bez vystupujících nepříjemných pachů a příchutí po vedlejších produktech kvašení a cizích příchutí a pachů [5, 18].

Konzumní líh je rafinovaný líh kvasný nenedenaturovaný a upravený přidáním pitné vody na nejvýše 80 % objemových etanolu [19].

V České republice jsou v současné době v provozu (viz. příloha p 1) tři průmyslové lihovary (Chrudim, Kojetín, Kolín), které vyrábějí potravinářský líh, dále bioetanolové závody (Dobrovice, Trmice, Vrdy, Hustopeče) a několik zemědělských lihovarů. Produkce průmyslových lihovarů v kampani 2007/08 je uvedena v příloze p 2 [20].

ZÁVĚR

Za biotechnologický proces můžeme považovat kteroukoli technologii, která využívá živé organismy či jejich části k výrobě nebo modifikaci produktů, ke šlechtění mikroorganismů, rostlin a živočichů pro specifické použití.

V úvodní části bakalářské práce jsou popsány suroviny vhodné k výrobě lihu. K výrobě lze použít všechny zemědělské plodiny či suroviny, které obsahují přímo zkvasitelné cukry nebo polysacharidy, které však musíme nejdříve převést pomocí enzymatické, kyselé nebo alkalické hydrolýzy na zkvasitelné cukry.

Další část práce se zabývá využitím mikroorganismů a průběhem lihového kvašení. Schopnost produkovat etanol ve zvýšeném množství ze sacharidových substrátů přisuzujeme různým mikroorganismům, především však bakteriím a kvasinkám. Hlavním producentem jsou kvasinky *Sacharomyces cerevisiae*, které jsou bezpochyby nejdůležitější skupinou mikroorganismů využívaných v průmyslu jak z důvodů ekonomických, tak i technologických. Vyznačují se vysokou rychlostí tvorby etanolu, jeho tolerancí a nízkou produkcí vedlejších metabolitů. V poslední době se začíná využívat bakterie *Zymomonas mobilis*, která má v porovnání s kvasinkami rychlejší metabolismus, nižší nároky na výživu, nižší produkci metabolitů a při kvašení mohou být použity vyšší teploty. I přes určité patrné výhody bakterií jako producentů etanolu se stále v průmyslové praxi u nás a ve světě používají kvasinky.

V ČR se k výrobě lihu používá téměř výhradně melasa. Z hlediska zpracování je melasa vhodnější surovinou pro výrobu lihu než obilí, za její hlavní přednosti můžeme označit snadnou přípravu zápary (naředění vodou, úprava přísadkami živin a kyselin) a skutečnost, že obsahuje přímo zkvasitelný cukr – sacharosu. Zápara se připravuje o různých koncentracích, slabší se používá k zahájení fermentace a koncentrovanější pro doplňování kádí během fermentace. Kvašení s využitím produkčních kmenů kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* probíhá za anaerobních podmínek, pH je udržováno mezi hodnotami 4,5 - 5,0 a teplota by neměla překročit 32 °C. Dalším důležitým faktorem je zákvasná koncentrace kvasinek v zápare, čím je koncentrace buněk vyšší, tím je kratší doba kvašení a vyšší produktivita fermentace. Kvasinky jsou postupně pomnožovány v laboratorní a provozní propagaci do množství, které je potřebné k zakvašení zápary ve fermentoru. Proces přípravy zákvasu je náročný z hlediska udržení sterility a na spotřebu substrátu a živin. Proto byla vyvinuta celá řada způsobů fermentace pracujících od počátku s vysokou koncentrací kvasinek, využívajících

recirkulaci buněk z předchozí fermentace a umožňujících případné oddělení etanolu během fermentace.

Lih, jako finální výrobek, má rozmanité uplatnění. Je využíván v chemickém, farmaceutickém a potravinářském průmyslu, v kosmetice, ale i v domácnosti, při výrobě kaučuku, jako pohonná látka a v celé řadě dalších odvětví. Pouze malá část se používá k výrobě alkoholických výrobků.

Podle zákona č. 61/1997 Sb., o lihu², ve znění pozdějších předpisů, se pro účely tohoto zákona rozumí lihem etylalkohol (etanol) získaný:

1. destilací nebo jiným oddělením ze zkvašených cukerných roztoků pocházejících ze škrobnatých nebo cukerných surovin nebo z jiných surovin obsahujících lih kvasný,
2. destilací nebo jiným oddělením ze zkvašených roztoků pocházejících z celulózy,
3. synteticky.

² Zákon o lihu a o změně a doplnění zákona č. 455/1991 Sb., o živnostenském podnikání (živnostenský zákon), ve znění pozdějších předpisů, a zákona České národní rady č. 587/1992 Sb., o spotřebních daních, ve znění pozdějších předpisů, (zákon o lihu).

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PELIKÁN, M., SÁKOVÁ, L. *Jakost a zpracování rostlinných produktů*. 1. vyd. České Budějovice, 2001. 233 s. ISBN 80-7040-502-3.
- [2] KADLEC, P. a kol. *Technologie potravin II*. 1. vyd. VŠCHT Praha, 2002. 236 s. ISBN 80-7080-510-2.
- [3] HAMPL, B. *Přehled potravinářského a kvasného průmyslu*. 1.vyd. SNTL Praha, 1962. 454 s.
- [4] Tradiční technologie [online] [cit. 9. 5. 2009]
<http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/tradtech.pdf>
- [5] RYCHTERA, M., UHER, J., PÁČA, J. *Lihovarství, droždářství a vinařství I. a II.* část. 2. vyd. VŠCHT Praha, 1991. 351 s. ISBN 80-7080-117-4.
- [6] Strava.sk. [online] [cit. 9. 5. 2009]
<http://www.strava.sk/showdoc.do?docid=6801>
- [7] ROP, O., HRABĚ, J. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. 1. vyd. UTB Zlín, 2009. 129 s. ISBN 978 -80-7318-748-4.
- [8] Technologie kvasného průmyslu. [online] [cit. 9. 5. 2009]
<http://www.primat.cz/mendelu/predmety/technologie-kvasneho-prumyslu-q3979/technologie-kvasneho-prumyslu-m6203/>
- [9] Fyziologie průmyslových mikroorganismů II. [online] [cit. 9. 5. 2009]
<http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/fyziioII.pdf>
- [10] DRDÁK, M. *Základy potravinářských technologií*. Bratislava: Malé centrum, 1996. 495 s. ISBN 80-967064-1-1.
- [11] ČECHOVÁ, L., JANALÍKOVÁ, M. *Obecná mikrobiologie*. 1.vyd. UTB Zlín, 2007. 190 s. ISBN 978-80-7318-516-9.
- [12] REBROŠ, M. Mikrobiálna produkcia palivového etanolu: Baktérie alebo kvasinky? *Chemické listy* 2005, roč. 99, č. 6, s. 402-409.

- [13] The Vinification. [online] [cit. 9. 5. 2009]
<http://www.chateauneuf.dk/en/production/vinification.htm>
- [14] Alkoholy. [online] [cit. 9. 5. 2009]
<http://xantina.hyperlink.cz/organika/derivaty/alkoholy.html>
- [15] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin II*, Osis Tábor, 1999. 283 s. ISBN 80-86659-01-1.
- [16] Ovocné víno. [online] [cit. 9. 5. 2009]
<http://www.tech-info.cz/vino.html>
- [17] Difuzně separační metody. [online] [cit. 9. 5. 2009]
http://www.fs.cvut.cz/cz/u218/pedagog/predmety/4rocnik/dsp/i_dsp.htm
- [18] Vyhláška MZe č. 141/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobu, skladování a zpracování lihu.
- [19] Vyhláška MZe č. 335/1997 Sb., v platném znění.
- [20] REINBERGR, O. České cukrovarnictví po kampani 2007/08 a výroba bioetanolu. *Listy cukrovarnické a řepařské 2008*, roč. 124, č. 4, s.112-113.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ATP Adenosintrifosfát

EMP Embden-Meyerhof-Parnasova dráha

KDPG 2-keto-3-deoxy-6-fosfoglukonát

°Bg Ballingovy sacharometrické stupně

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Melasa	12
Obr. 2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
Obr. 3 Etanolvé kvašení.....	18
Obr. 4 Schéma kvasírny s vratnou separací kvasinek	28
Obr. 5 Schéma Biositil.....	29
Obr. 6 Závislost bodu varu soustavy etanol-voda na složení	30
Obr. 7 Destilační kolona	32
Obr. 8 Barbetův rafinační přístroj (novější verze)	33

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Alkoholické výtěžky	16
----------------------------------	----

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: Výrobci bioetanolu a průmyslového lihu v ČR

PŘÍLOHA P II: Čeští výrobci lihu

PŘÍLOHA P I: VÝROBCI BIOETANOLU A PRŮMYSLOVÉHO LIHU V ČR



PŘÍLOHA P II: ČEŠTÍ VÝROBCI LIHU

Společnost	Výroba v kampani 2007/08 (hl)
Cukrovary a lihovary TTD (lihovar - Chrudim)	200 000
Moravský lihovar Kojetín	200 000
Bioferm - lihovar Kolín	80 000