

FYTOSTEROLY A STERYLGLYKOZIDY V POSTFERMENTAČNOM KUKURIČNOM OLEJI A ICH VPLYV NA KVALITU BIOPALÍV

MÁRIA HOLÍČKOVÁ^a, PETRA ONDREJÍČKOVÁ^b,
VALENTÍNA KAFKOVÁ^a a VERONIKA
CYPRICHOVÁ^b

^a Združenie Energy 21, Trnavská cesta 1033, Leopoldov 920 41, ^b Centrum výskumu a vývoja, s.r.o., Trnavská cesta 1033/7, Leopoldov 920 41, Slovenská republika
kafkova@enviengroup.eu

Došlo 21.6.21, prepracované 14.3.22, prijaté 22.3.22.

Kľúčové slová: biopalivá, sterylglukozidy, nízkoteplotné vlastnosti, precipitát, kukuričný olej, fytosteroly

● <https://doi.org/10.54779/chl20220365>

Obsah

1. Úvod
2. Vlastnosti fytosterolov a sterylglukozidov, ich vplyv na vlastnosti bionafty
 - 2.1. Vlastnosti fytosterolov
 - 2.2. Vlastnosti sterylglukozidov
 - 2.3. Vplyv sterylglukozidov na nízkoteplotné vlastnosti bionafty
3. Detekcia fytosterolov a sterylglukozidov v olejoch a návrhy ich redukcie
 - 3.1. Zastúpenie fytosterolov a sterylglukozidov v surovom kukuričnom oleji
 - 3.2. Distribúcia fytosterolov a sterylglukozidov pri predúprave kukuričného oleja a spracovaní na biopalivo
 - 3.2.1. Konvenčné postupy rafinácie oleja
 - 3.2.2. Inovatívne postupy na odstránenie SG
4. Záver

1. Úvod

Bionafta, resp. biodiesel (FAME – zmes metylesterov mastných kyselín) patrí do kategórie ekologických palív syntetizovaných najmä transesterifikáciou z obnoviteľných zdrojov energie (väčšinou z oleja poľnohospodárskeho pôvodu), vhodných pre naftové (spaľovacie) motory. FAME prispieva k zníženiu emisií CO₂ v atmosfére až o 70 % oproti fosílnym palivám¹. Konkrétny druh používanej suroviny na výrobu oleja používaného na výrobu bionafty súvisí so socio-ekonomickými aspektami a klimatickými podmienkami danej oblasti² a dostupnou výrobnou

technológiou. Na Slovensku a v ČR sa bionafta vyrába najmä spracovaním repkového oleja alebo zmesi oleja spolu s post-fermentačným kukuričným olejom, slnečnicovým olejom, použitým kuchynským olejom alebo živočíšnymi tukmi, pričom hlavnou zložkou zmesi zostáva repkový olej³. Úplné zloženie bionafty ako aj jej vlastnosti závisia predovšetkým od zloženia vstupného mixu surovín, ktoré sa navzájom môžu líšiť zastúpením mastných kyselín a ich derivátov⁴. Surovina použitá pri výrobe bionafty môže obsahovať zložky znižujúce kvalitu bionafty, ktoré spôsobujú niekoľko procesných a transportných problémov spojených s relatívne vysokou teplotou tuhnutia v porovnaní s fosílnou naftou². Existuje úsilie o elimináciu týchto nežiaducich zložiek z bionafty úpravou suroviny alebo čistením bionafty.

Steryglukozidy (SG) a glyceridy sa považujú za dve hlavné skupiny chemických látok, ktoré iniciujú tvorbu zrazeniny v bionafte a tým znižujú nízkoteplotné vlastnosti, napr. filtrovateľnosť^{5,6} a stabilitu bionafty.

Tento referát predstavuje základné informácie o fytosteroloch a SG v olejoch, so zameraním na post-fermentačný kukuričný olej, ktorý je lokálne dostupný vzhľadom na priemyselné spracovanie kukurice na bioetanol a súčasne má výrazne vyšší obsah fytosterolov v porovnaní s inými olejmi dostupnými na Slovensku⁷, a popisuje vybrané spôsoby odstraňovania SG z rastlinných olejov a bionafty.

2. Vlastnosti fytosterolov a sterylglukozidov, ich vplyv na vlastnosti bionafty

Steroly zohrávajú v rastlinných bunkách (fytoosteroly) významnú úlohu (regulačná, rastová, morfológická funkcia)⁵. V rastlinách sa nachádzajú voľné steroly, konjugované steroly vo forme sterylých esterov, sterylglukozidov a acyl-sterylglukozidov, ktoré sa navzájom líšia charakterom bočného reťazca a počtom a polohou dvojitých väzieb⁸. Steryglukozidy sú deriváty fytosterolov a glukózy vyskytujúce sa vo forme acyl-sterylglukozidu (ASG) alebo ako voľné sterylglukozidy⁹. Ich obsah v rastlinných olejoch je tiež spravidla v desatinách percenta¹⁰.

Fytoosteroly (FS) a ich estery tvoria prirodzenú súčasť prírodných tukov a olejov, kde ich obvyklý obsah zvyčajne predstavuje len niekoľko desiatin percenta a tvorí hlavnú zložku nezmydeliteľného podielu^{11,12}. Zložky nezmydeliteľného podielu môžu ovplyvňovať samotný proces výroby bionafty¹³ alebo výslednú kvalitu bionafty⁹.

2.1. Vlastnosti fytosterolov

Fytoosteroly sú prirodzené sa vyskytujúce bezfarebné kryštalické zlúčeniny s pomerne vysokým bodom topenia

a malou optickou otáčavosťou, ktoré sú štrukturálne podobné cholesterolom, no majú odlišné konfigurácie bočného reťazca. V rastlinných olejoch je prítomná zmes niekoľkých sterolov, z ktorých je najrozšírenejší β -sitosterol, kampesterol a sitostanol. Menej rozšírené sú stigmasterol, ergosterol, brassikasterol¹⁴. Fytosteroly rozdeľujeme na voľné a viazané alicyklické alkoholy. Fytosteroly majú bočný reťazec zložený z 9 alebo 10 atómov uhlíka, z celkového počtu 28 alebo 29 atómov uhlíka. Alkylový bočný reťazec môže tiež obsahovať dvojitzú väzbu¹⁵. Tieto steroly sa hydrogenáciou menia na fytostanoly. Fytosteroly a fytostanoly sú tuhej prachovitej konzistencie s vysokou teplotou topenia^{14,16}. Nie sú rozpustné vo vode a metanole, ale sú rozpustné v acetóne a etylacetáte, v chloroforme, dietyléteri a horúcom etanole. S kyselinou octovou ľahko tvoria kryštalické octany, z digitoninom nerozpustné adičné zlúčeniny a so zmesou acetanhydridu a kyseliny octovej tvoria červené sfarbenie (tzv. Liebermann-Burchardova reakcia)¹⁷.

Fytostanoly a estery fytosterolov sú chemicky stabilné materiály s porovnateľnými chemickými a fyzikálnymi vlastnosťami ako jedlé tuky a oleje¹⁵. Fytosteroly sa komerčne izolujú z rastlinných olejov, ako je sójový olej, repkový olej, slnečnicový olej alebo kukuričný olej¹⁴. Voľné steroly sú dobre rozpustné v bionafta na rozdiel od viazaných sterolov, napr. sterylglukozidov, ktoré sú nerozpustné².

2.2. Vlastnosti sterylglukozidov

Z chemického hľadiska sú sterylglukozidy glykolipidy, ktoré pozostávajú z rastlinného sterolu glykozidicky viazaného na molekulu glukózy¹⁸. Molekulová hmotnosť SG je v priemere 576 g mol^{-1} . Teplota topenia SG sa pohybuje v rozmedzí 240–290 °C. SG sú rozpustné v organických rozpúšťadlách¹⁹ a obmedzene rozpustné vo FAME: vytvárajú vrstvu medzi FAME a glycerínom po transesterifikácii²⁰. V čerstvej bionafta sú dobre rozpustné, časom pomaly kryštalizujú^{6,21}. Niektoré štúdie ukazujú, že

ich rozpustnosť sa zvyčajne pohybuje v rozmedzí 10–20 mg kg^{-1} pri izbovej teplote^{6,21,22}. Vo vyšších koncentráciách sú nerozpustné a po niekoľkých dňoch sa začínajú uvoľňovať z roztoku, viazať na seba iné nečistoty a sedimentovať na dne nádrže. V oleji sa SG väčšinou nachádzajú v rozpustnej acylovej forme ASG (masťná kyselina je estericky viazaná na alkoholovú funkčnú skupinu v molekule glukózy). V dôsledku hydrolyzy počas transesterifikačného procesu výroby biopalív sú tieto masťné kyseliny odstraňované počas alkalických procesov a dochádza k hromadeniu málo rozpustných sterylglukozidov²³, preto je vo všeobecnosti prítomnosť ASG v oleji, resp. SG v biopalive nežiaduca.

2.3. Vplyv sterylglukozidov na nízkoteplotné vlastnosti bionafty

Vo všeobecnosti, bionafta môže spôsobovať viaceré procesné aj transportné problémy najmä pri preprave potrubnými systémami, či cisternami pri nízkych vonkajších teplotách⁹, ktoré súvisia s jeho relatívne vysokým bodom topenia v porovnaní s komerčnými fosílnymi palivami (tab. I).

Množstvo SG prítomných vo výslednej bionafta je teda podmienené nielen typom zdrojového rastlinného oleja s individuálnym spektrom masťných kyselín, ktorý bol použitý na výrobu bionafty, ale aj spôsobom predúpravy oleja, spôsobom spracovania FAME, intenzitou miešania, teplotou a dĺžkou skladovania⁶.

Počas výroby bionafty transesterifikáciou klesá polarita rozpúšťadla (TAG) s tým, ako sa TAG premieňa na FAME. Zároveň narastá polarita SG, ktoré vznikajú z mekej polárnych ASG, čím môže dôjsť k vzniku kryštálov a zrazenín v bionafta²⁰. SG sú považované za rozptýlené jemné tuhé častice, ktoré už pri množstve 35 mg kg^{-1} podporujú kryštalizáciu ostatných látok v biopalive²³, časom vytvárajú sedimenty v bionafta, čo môže zvyšovať prevádzkové náklady skladovania a logistiky a môžu zhoršovať vlastnosti vyrobeného biopaliva.

Tabuľka I

Porovnanie nízkoteplotných vlastností FAME z rastlinných olejov, živočíšnych tukov a dieslového paliva

Druh suroviny použitej na výrobu FAME	Bod zákalu [CP, °C]	Bod tuhnutia [PP, °C]	CFPP [°C]	Obsah SG [mg kg^{-1}]
Canola	–3	–4	–4	18
Kukuričný olej	–3	–4	–7	480
Palmový olej	14	14	12	140
Repkový olej ^a	–3	–9	–9	–
Sójový olej	0	–2	–2	25–270
Slnečnicový olej	2	–3	–2	18
Tuk z hydiny	4	6	1	–
Použité živočíšne tuky	8	6	1	–
Diesel	–31	–46	–42	–

^a <5 hm. % kys. erukovej; Zdroj: Dunn⁹

Dĺžka skladovania biopaliva vplýva na postupnú kryštalizáciu málo rozpustných SG na nerozpustné aglomeráty spôsobujúce dnové usadzovanie SG pri skladovaní.

Rovnako skladovanie pri nízkych teplotách zhoršuje vlastnosti paliva, prípadne vyvolávajúce prevádzkové problémy⁹.

Zákal bionafty môže vzniknúť aj pri izbovej teplote už pri koncentrácii voľných SG v rozmedzí 10–90 mg kg⁻¹ (cit.⁹). Podľa výskumu Bondioliho a spol.²⁰ už po siedmich dňoch skladovania bionafty z palmového oleja bolo dnovým usadzovaním množstvo SG znížené o viac ako 65 % (skladovanie pri 20 °C).

Prítomnosť vlhkosti môže komplikovať skladovacie problémy, pretože monoacylglyceroly aj diacylglyceroly majú amfifilnú povahu a môžu interagovať s vodou. Miešaním s nepolárnym (hydrofóbnym) podielom klesá rozpustnosť, čo môže spôsobiť urýchlenie zrážania. Tieto častice usadené na dne skladovacej nádrže môžu spôsobiť obmedzenie prietoku alebo upchatie filtrov v rozprašovačoch paliva vo vozidlách pri nízkych teplotách⁹. Napriek viacerým dostupným štatistikám, presná limitná koncentračná hodnota ASG a SG stanovená nie je, resp. rôzne zdroje ju uvádzajú rôznu²³.

Ako vidno z tab. I, jednoznačná korelácia medzi obsahom SG a *medznou teplotou filtrovateľnosti* (CFPP) nie je preukázaná. Spektrum voľných mastných kyselín (FFA) a obsah nezreagovaných acylglycerolov má na CFPP oveľa významnejší vplyv. Najmä etylestery mastných kyselín prítomné v KO, ktoré predstavujú viac ako 2 hm.% z celkového množstva esterifikovaných mastných kyselín, a ich fyzikálno-chemické vlastnosti sú zodpovedné za zvýšenú kinematickú viskozitu, ktorá narastá úmerne s dĺžkou uhlíkovodíkového reťazca zlúčeniny. To znamená, že etylestery sú viskóznejšie – menej tečúce pri nízkych teplotách – ako metylestery²⁴.

Cetánové číslo je pre etylester vyššie a bod zákalu nižší ako pre metylestery mastných kyselín, takisto kvôli dĺžke ich reťazca²⁵.

3. Detekcia fytoosterolov a sterylglukozidov v olejoch a návrhy ich redukcie

Voľné fytoosteroly dominujú v sójovom (0,24–0,45 %, cit.²⁶), olivovom a slnečnicovom oleji⁸. Slnečnicový olej

bežne obsahuje 0,34 % voľných sterolov a 0,28 % esterifikovaných sterolov¹⁰. Zastúpenie fytoosterolov v olejoch sa značne mení, na čo poukazuje tab. II, v rámci štúdie zloženia rôznych druhov oleja. Variabilita v obsahu a zložení fytoosterolov je podmienená spôsobom spracovania suroviny na výrobu oleja ako aj typom odrody²¹.

Post-fermentačný kukuričný olej (KO) je získavaný ako vedľajší produkt výroby bioetanolu z kukurice a je spracovávaný ako súčasť vstupného surovinového mixu pre produkciu bionafty. Pre možné primiešavanie KO ako pokročilej suroviny do surovinového mixu je nevyhnutné analyzovať obsah FS, príp. SG v surovom KO a ich distribúciu počas jednotlivých krokov predúpravy kukuričného oleja a výrobného procesu metylesteru z KO a KO(MEFA) – produkt kyslej esterifikácie KO. Je dôležité zdôrazniť, že profil a zloženie KO úzko súvisí s typom kukurice, s klimatickými podmienkami a sezónou pestovania¹⁶. Z toho vyplýva široký koncentračný rozsah a nutnosť analýzy týchto parametrov.

3.1. Zastúpenie fytoosterolov a sterylglukozidov v surovom kukuričnom oleji

Fytoosteroly sa nachádzajú vo všetkých prírodných tukoch a olejoch a zvyčajne tvoria hlavnú zložku nezmydeliteľného podielu. V analyzovanom kukuričnom oleji bol preukázaný 2,6% obsah nezmydeliteľných látok, ktoré sa považujú za zdroj vzniku tuhých častíc pri destilácii a výrobe bionafty. Na základe dostupných analýz surový kukuričný olej obsahuje celkovo 1,5–2 % fytoosterolov, z čoho sa 50 % vyskytuje v inej ako voľnej forme²⁷. Analýzy vykonané pred a po zmydlení oleja kvantifikovali voľné a celkové množstvo sterolov. Súčet identifikovaných voľných sterolov v priamej analýze KO sa pohyboval v rozmedzí 5,7–8,4 g kg⁻¹. Tieto hodnoty sa po zmydlení viac ako zdvojnásobili (15,8–17,9 g kg⁻¹), čo naznačuje, že najmenej 50 % sterolov bolo vo viazanej forme²⁷.

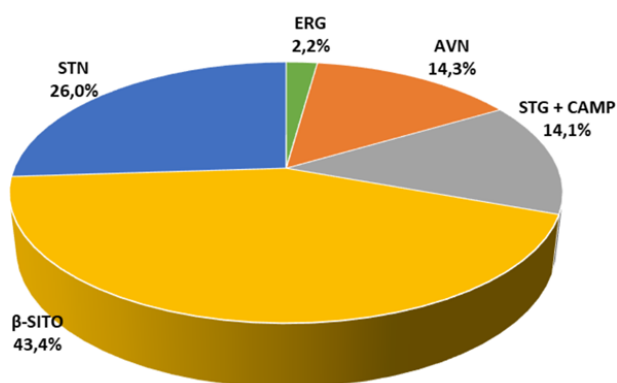
Beta-sitosterol, sitostanol, stigmasterol + kampesterol a ergosterol sú steroly identifikované v post-fermentačnom kukuričnom oleji na základe porovnania retenčných časov a UV spektrier s čistými štandardmi (obr. 1)²⁷. Výsledky HPLC-DAD a LC-MS/MS analýzy²⁷ potvrdili aj prítomnosť SG v surovom KO v množstve 110–120 mg kg⁻¹ (cit.⁷).

Tabuľka II

Typické zastúpenie fytoosterolov (FS) a sterylglukozidov (SG) vo vybraných druhoch rastlinných olejov a v biodiesli vyrobenom z nich (mg kg⁻¹)

	Obsah [mg kg ⁻¹]	Kukurica	Repka	Sója	Palma	Slnečnica
Komerčný olej	FS	11 800	6100	3600	2600	2100–4540
	SG	500	200 (cit. ²¹)	>2300 (cit. ⁹)	>2300 (cit. ⁹)	200 (cit. ⁹)
Biodiesel	SG	480	18 (cit. ⁶)	25–270	140	18 (cit. ⁶)

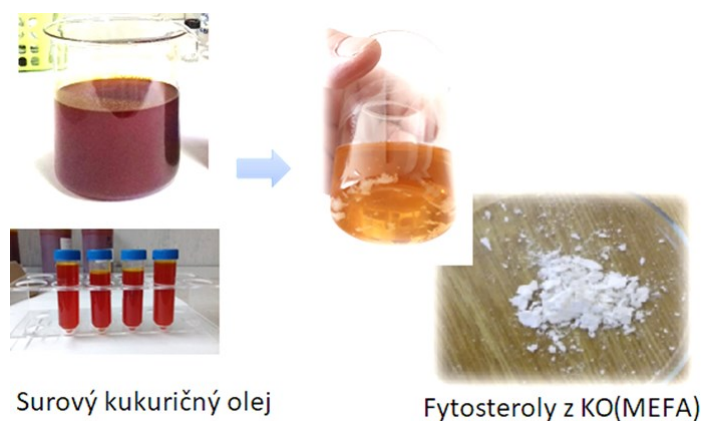
Zdroj: Tang⁶, Bondioli²⁰, Haupt²¹, Dunn⁹, Tang⁸



Obr. 1. Relatívne pomery jednotlivých skupín fytosterolov identifikovaných v post-fermentačnom kukuričnom oleji; hodnoty sú priemerom dlhodobého sledovania kvality oleja. (STN – sitostanol, ERG – ergosterol, AVN – avenasterol, STG – stigmasterol, CAMP – kampesterol, β-SITO – beta-sitosterol)⁷

3.2. Distribúcia fytosterolov a sterylglukozidov pri predúprave kukuričného oleja a spracovaní na biopalivo

V surovom KO sa steroly môžu vyskytovať vo vyšších vyššie spomenutých formách. Vo voľnej forme sú hydrofóbne, takmer nerozpustné vo vode a čiastočne rozpustné v tukoch. V esterifikovanej forme ako sterylestery sú v tukoch aj vo FAME rozpustné. Počas transesterifikácie dochádza k hydrolýze týchto esterov a stávajú sa z nich voľné steroly – nerozpustné látky, ktoré postupne kryštalizujú vo FAME (cit.¹⁴), v prípade použitia kukuričného oleja ako vstupnej suroviny v produkte transesterifikácie (metylestery kukuričného oleja) a vo vzniknutom produkte kyslej esterifikácie FFA fázy kukuričného oleja – KO (MEFA), obr. 2, cit.²⁸.



Obr. 2. Vstupný olej – post fermentačný kukuričný olej a separované prečistené fytosteroly z výsledného produktu kyslej esterifikácie KO(MEFA)

3.2.1. Konvenčné postupy rafinácie oleja

Rafinácia oleja sa konvenčne uskutočňuje vo viacerých krokoch: odslizovanie – odstránenie nerozpustných látok, neutralizácia – odstránenie FFA, sušenie – odstránenie vody, filtrácia – odstránenie nežiadúcich tuhých častíc, bielenie – odstránenie farebných látok, dezodorizácia – odstránenie pachových látok a prchavých kyselín. Výskumy Bondioliho a spol.²⁰ poukazujú na to, že úplná fyzikálna rafinácia bionafty umožňuje odstraňovanie SG v postačujúcej miere. Bieliaca hlinka sa používa na adsorpciu polárnych zlúčenín. Štúdia zároveň zistila, že v procese výroby bionafty dochádza v každom kroku k postupnému odstraňovaniu malého množstva SG. Naopak vplyv dezodorizácie na obsah SG bol vylúčený. Dezodorizáciou je však možné odstrániť až 24 % FS z celkového obsahu FS v surovom kukuričnom oleji. V rámci každého kroku rafinácie dochádza k odstraňovaniu určitého množstva FS a SG, čím sa zlepšujú vlastnosti výsledného produktu⁷. Výskum Tang a spol.⁶ ukazuje, že odstraňovanie SG z bionafty prebieha s väčšou efektivitou za zníženej teploty (až do $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$) a pri dlhšom čase skladovania. Ich výsledky odporujú niektorým tvrdeniam Bondioliho a spol.²⁰, keďže v štúdii preukázali pozitívny vplyv vodného degummingu (odslizenie) a destilácie na zníženie koncentrácie SG v bionafte.

Odstránením týchto látok počas rafinačného procesu by sa zabezpečilo čiastočné vyriešenie technologických problémov v rafinériách. Výskum ukazuje, že napríklad rafinovaný sójový olej obsahuje až o 76 % menej SG ako surový sójový olej (pokles z 272 mg kg^{-1} na 64 mg kg^{-1})²⁹. Zároveň so stúpajúcou intenzitou extrakcie oleja stúpa aj pravdepodobnosť zvýšeného obsahu SG a ASG v surovom oleji. V lisovanom repkovom oleji bola takmer vždy zistená podstatne nižšia koncentrácia SG a ASG (cit.²¹).

3.2.2. Inovatívne postupy na odstránenie SG

Okrem vyššie uvedených postupov je možné zaradiť do procesu technologické zariadenia zahrievania, studenej filtrácie, ultrafiltrácie alebo membránového čistenia, ktoré

môžu odstraňovať SG s vyššou účinnosťou. Vplyv zahrievania surového oleja s cieľom znížiť obsah FS skúmali Thanh a spol.³⁰. Záver ich štúdie ukazuje, že zahriatie surového oleja na teplotu 200 °C po dobu 1 h spôsobilo zníženie množstva FS voči referencii až o polovicu (50–60 %). Steroly a prakticky aj SG pri týchto podmienkach oxidujú; vznikajúce peroxidy sa rozkladajú na menšie fragmenty. Podľa štúdie Na-Ranong a spol.³¹ je možné SG z bionafty odstraňovať aj ich adsorbovaním na magnéziovej silici, kedy za podmienok experimentu (65–80 °C; 1 hm.% MS) bolo odstránených 81,4–82,5 % SG. Okrem SG došlo aj k odstráneniu mono-, di- a triacylglyceridov, ktorých množstvo bolo v závislosti od obsahu SG znížené o 11–13 %. Autori Tremblay a Montpetit³² na odstraňovanie SG z FAME použili ultrafiltráciu. FAME pochádzalo z odsliženého (degumovaného) sójového oleja. Najväčšia miera filtrácie bola dosiahnutá pri použití 0,7 hm.% katalyzátora (metanolát sodný) a pomeru metanolu a oleja 4:1; množstvo odseparovaných SG bolo 86 %. Uvedené výsledky boli odôvodnené tým, že prítomnosť katalyzátora vo FAME spôsobuje deprotonizáciu SG, ktoré sa stávajú menej rozpustné vo FAME a viac rozpustné v polárnej fáze, k čomu dochádza, až pokiaľ sa hodnota pH polárnej fázy (metanol/glycerol) nevyrovná hodnote pKa sterylglykozidov (pKa (stigmasterylglykozid) = 12,21)³². Využitie týchto ďalších rafinačných postupov však znamená zvýšenie počiatkových a prevádzkových nákladov na rafinovanie oleja, resp. bionafty.

Vrstvu SG nie je možné odstrániť práním vodou²⁰, nakoľko v nej pri bežných neutrálnych podmienkach nie sú rozpustné. Všeobecne SG je možné štiepiť na glukózu a steroly pomocou silných anorganických (kys. sírová, chlorovodíková, fosforečná), či organických (kys. sulfónová) kyselín³³, prípadne silno kyslých ionexov (katexov). Následne je možné glukózu vyprať vodou a steroly oddestilovať od FAME.

Využitie špecifických enzýmov, najmä β -glukozidáz, a enzymatickej modifikácie kvality vstupnej suroviny (oleja rastlinného pôvodu), prípadne koncového produktu (FAME) a cielečné odstránenie SG, ASG a iných minoritných kontaminantov tak, aby sa dosiahli zlepšené kvalitatívne vlastnosti oleja (oxidačná stabilita a nízkoteplotné vlastnosti) sa ukazuje ako udržateľné a efektívne riešenie³⁴. Súčasne je zachovaný environmentálne šetrný prístup³⁴ s perspektívnym komerčným využitím aj v zimných mesiacoch za dodržania špecifikácií daných platnými technickými normami (STN EN 14214) a internými predpismi výroby³⁵. Potenciálom pri riešení odstránenia SG z bionafty by mohli byť enzýmy, ktoré majú špecifickú aktivitu k SG a sú označované za sterylglykozidázy (SGase). SGase hydrolyzujú SG na glukózu a sterol. Štiepne produkty hydrolyzy SG – glukóza, no predovšetkým steroly – sa dajú ľahko odstrániť na bežných zariadeniach existujúcich biorafinérií (odstránenie glukózy po transesterifikácii premývaním vodou)³⁵ a majú potenciál stať sa ďalšími vedľajšími produktami biorafinérií s vysokou pridanou hodnotou. Štúdia Eberhardtovej a spol.³⁶ sa zaoberala odstraňovaním SG zo sójového FAME pomocou SGase. Enzým bol produkovaný *E. coli*, ktorá bola fermentovaná po dobu

25 h (1300 l, 37 °C, pH = 6,9, 30 % sat. kyslíka), pričom zdrojom uhlíka bol glycerol v koncentrácii 20 g l⁻¹. Experiment ukázal, že 7 g SGase dokáže priemerne odstrániť 100 mg kg⁻¹ SG. Teda z 1 litra kultúry je možné získať SGase využiteľnú na odstránenie SG z 1 t bionafty.

4. Záver

Kukuričný olej je vedľajší produkt technológie výroby bioetanolu momentálne spracovávaný v zmesi olejov ako vstupnej suroviny pri výrobe biopaliva FAME. Jedným z problémov aplikácie takéhoto FAME v doprave je potenciálna tvorba precipitátov, ktoré je potrebné odstrániť, aby sa zabezpečila oxidačná stabilita a optimálne nízkoteplotné vlastnosti bionafty. Zrazeniny, ktoré sú prítomné v bionaftě, sú väčšinou zložené z monoglyceridov nasýtených mastných kyselín (SMG) a z SG, ktoré sa nachádzajú v bionaftě v rozmedzí koncentrácií do 1500 mg kg⁻¹ pre SMG a 10 až 480 mg kg⁻¹ pre SG. Na dosiahnutie lepšej kvality bionafty je nevyhnutné odstrániť sterylglykozidové precipitáty, zatiaľ však nie sú k dispozícii žiadne efektívne nízko-nákladové metódy na odstránenie týchto zlúčenín v priemyselnom meradle³⁵. Environmentálne šetrný potenciál predstavujú rekombinantné enzýmy SGase, ktorých aplikáciou dochádza k hydrolyze SG na glukózu a sterol a tým aj vzniku a separácii štiepných produktov – látok s vysokou pridanou hodnotou. Produkcia enzýmov priamo vo výrobnjej prevádzke pozitívne ovplyvní uhlíkovú stopu biotechnologickej výroby a zvýši efektívnosť výroby biopalív, čím sa významne zvýši pozitívny účinok na globálnu klímu. Možnosť enzymatického optimalizovania zloženia a vlastností rastlinných olejov prispieje vo výraznej miere k zvýšenej efektívnosti a zníženiu nákladov výrobných postupov produkcie biopalív bez potrebných vysokých investičných nákladov na prestavbu alebo výmenu technológie, keďže aplikácia je možná v ktoromkoľvek kroku podľa podmienok konkrétneho enzýmu.

Vypracované s finančnou podporou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky, Agentúrou na podporu výskumu a vývoja (APVV-18-0254).

Zoznam použitých skratiek

ASG	acylované sterylglykozidy
CFPP	medzná teplota filtrovateľnosti (°C, Cold Filter Plugging Point)
FAME	metylestery mastných kyselín (Fatty Acid Methyl Esters)
FFA	voľné mastné kyseliny (Free Fatty Acids)
FS	fytoosteroly
KO	kukuričný olej
KO(MEFA)	metylestery z kyslej esterifikácie FFA fázy kukuričného oleja
PP	bod tuhnutia (°C, Pour Point)
SG	sterylglykozidy

TAG triacylglyceridy
SGase sterylglukozidáza

LITERATÚRA

- Hunicz J., Krzaczek P., Geca M., Rybak A., Mikulski M.: *Combust. Engines* 184, 72 (2021).
- Knothe G., v knihe: *Industrial Oil Crops* (McKeon T. A., Hayes D. G., Hildebrand D. F., Weselake R. J., ed.), kap. 2, str. 15. AOCS Press, Urbana, Illinois 2016.
- <https://www.meroco.sk/en/products/biodiesel-en>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Khethiwe E., Clever K., Jerekias G.: *Smart Grid Renewable Energy* 11, 165 (2020).
- Ferrer A., Altabella T., Arró M., Boronat A.: *Prog. Lipid Res.* 67, 27 (2017).
- Tang H., Salley S. O., Simon Ng K. Y.: *Fuel* 87, 3006 (2008).
- Ondrejčková P., Kafková V., Holíčková M., Cypričovská V., Gyuranová D., Krasňan V., Rebroš M.: *Proceedings of 8th International Conference on Chemical Technology, 3-5 May 2021, online konferencia* (Veselý M., Hrdlička Z., Hanika J., Lubojacký J., ed.), str. 309, Praha 2021.
- Tang H., De Guzman R., Salley S., Simon Ng K. Y.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 87, 337 (2010).
- Dunn R. O.: *Prog. Energy Combust. Sci.* 35, 481 (2009).
- Johansson A.: *Lipids* 14, 285 (2006).
- Corn Refiners Association: <https://corn.org/wp-content/uploads/2009/12/CornOil.pdf>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Yang J., Astatkie T., He Q. S.: *Energy Rep.* 2, 211 (2016).
- Morales G., Bautista L. F., Melero J. A., Iglesias J., Sánchez-Vázquez R.: *Bioresour. Technol.* 102, 9571 (2011).
- Cantrill R., Kawamura Y.: <https://www.fao.org/home/en>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Fernandes P., Cabral J. M. S.: *Bioresour. Technol.* 98, 2335 (2007).
- Barrera-Arellano D., Badan-Ribeiro A. P., Serna-Saldivar S. O., v knihe: *Corn* (Serna-Saldivar S. O., ed.), kap. 21, str. 593. Woodhead Publishing, Duxford 2019.
- Pokorný J.: *Technologie tuků*. SNTL Praha, Praha 1986.
- Gerpen J. V., Brian He B., Duff K.: *Measurement and Control Strategies for Sterol Glucosides to Improve Biodiesel Quality: Isolation and Characterization of Acylated Steryl Glucosides in Oilseed Crops of the Pacific Northwest*. University of Idaho, Moscow 2010.
- Wilhelm T. M.: *Rev. Palm.* 31, 136 (2010).
- Bondioli P., Cortesi N., Mariani C.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 120 (2008).
- Haupt J., Brankatschk G., Wilhelm T.: *Proceedings of 13th International Rapeseed Congress, 5-9 June 2011, Prague, Czech Republic* (bez editora), str. 1105, Praha 2011.
- Riazi M. R., Chiaramonti D.: *Biofuels Production and Processing Technology*. CRC Press, Boca Raton 2018.
- <http://www.biodieselmagazine.com/articles/1566/the-role-of-sterol-glucosides-on-filter-plugging>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Schober S., Wolf M., Mittelbach M.: *Energy Fuels* 24, 6693 (2010).
- Harrington K. J.: *Biomass* 9, 1 (1986).
- Wang T., v knihe: *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses* (Gunstone F. D., ed.), kap. 3, str. 59. Blackwell Publishing Ltd., Chichester 2011.
- Di Lena, G., Sanchez del Pulgar J., Lombardi Boccia G., Casini, I., Ferrari N. S.: *Foods* 9, 1788 (2020).
- Enviral, a.s.: *Rafinácia kukuričného oleja a výroba bionafty KOMÉ*, Leopoldov 2020.
- Camerlynck S., Chandler J., Hornby B., van Zuylen I.: *SAE Int. J. Fuels Lubr.* 5, 968 (2012).
- Thanh T. T., Vergnes M.-F., Kaloustian J., El-Moselhy T. F., Amiot-Carlin M.-J., Portugal H.: *J. Sci. Food Agric.* 86, 220 (2005).
- Na-Ranong D., Laungthaleongpong P., Khambung S.: *Fuel* 143, 229 (2015).
- Tremblay A. Y., Montpetit A.: *Biofuel Res. J.* 13, 559 (2017).
- Bönsch R., Eckhard S., Saft H., Ute R., Palauschek N., Hoffmann M.: DE102009006920 (C07J17/00).
- Aguirre A., Peiru S., Eberhardt F., Vetcher L., Cabrera R., Menzella H. G.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 4033 (2014).
- Peiru S., Aguirre A., Eberhardt F., Braia M., Cabrera R., Menzella H. G.: *Biofuels* 8, 223 (2015).
- Eberhardt F., Aguirre A., Paoletti L., Hails G., Braia M., Ravasi P., Peiru S., Menzella H.G.: *Bioprocess Biosyst Eng.* 41, 555 (2018).

M. Holíčková^a, P. Ondrejčková^b, V. Kafková^a, and V. Cypričovská^b (^a Association „Energy 21“, Leopoldov, Slovakia, ^b Centrum výskumu a vývoja, s.r.o., Leopoldov, Slovakia): **Steryl Glycosides in Postfermentation Corn Oil and Its Effect on the Biofuel Production**

Post-fermentation corn oil in transesterification process of biodiesel production is considered as feedstock causing major quality problems influencing both filterability and cold flow properties of crude biodiesel. Phytosterols and steryl glycosides (SG) occurring naturally in crude oil in acylated oil-soluble form are transformed during transesterification into unwanted non-acylated SG particles promoting sediments in final FAME (fatty acid methyl ester) product. Elimination and SG precipitates removal is necessary at industrial scale to achieve better biodiesel quality but preferably without significantly increasing costs of biodiesel production. Recombinant steryl glycosidase enzymes represent an environmentally friendly way

to reduce SG by its hydrolysis to glucose and sterols – substances with high added value. The production of enzymes directly in the production plant can positively affect the carbon footprint of biotechnological production and increase the efficiency, without high investment costs for conversion or technology change, since the application is possible at any production step with respect to specific enzyme conditions.

Keywords: biofuels, steryl glycosides, cold flow properties, precipitates, removal, corn oil, phytosterols

- Holíčková M., Ondrejčková P., Kafková V., Cyprichová V.: Chem. Listy 116, 365–371 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220365>

Acknowledgement

This work was supported by grant from the Slovak Research and Development Agency (Grant number: APVV-18-0254).