

POROVNÁNÍ ÚČINNOSTI CHEMICKÉ, FYZIKÁLNÍ A ENZYMATICKÉ HYDROLÝZY ODPADNÍHO PEČIVA

Helena Hudečková, Pavla Myslivcová, Libor Babák

*Ústav chemie potravin a biotechnologií, Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně,
Purkyňova 118, 612 00 Brno, Česká republika, telefon: 721302236, e-mail:
xhudeckova@fch.vutbr.cz*

Abstrakt

Nalezení optimálních podmínek pro hydrolýzu polysacharidických substrátů je v dnešní době důležité z hlediska využití těchto materiálů pro fermentace. Důležitým faktorem optimalizace hydrolýzy jsou i náklady. Studovali jsme proto účinnost chemických, fyzikálních a enzymatických hydrolýz, které jsme zároveň porovnávali.

Výtěžky jednotlivých hydrolýz byly stanoveny spektrofotometricky metodou podle Somogyi-Nelsona. Jako substrát pro jednotlivé hydrolýzy byl použit odpadní chléb. Ten byl předupraven mletím na malé částice a následně z něj byla připravena 15% (w/v) suspenze s vodou. Pro chemické hydrolýzy byly použity kyseliny (H_2SO_4 , HNO_3 , HCl) a zásady ($NaOH$, KOH) o různých koncentracích. Pro fyzikální hydrolýzy byla použita mikrovlnná trouba a ultrazvuk. Enzymatická hydrolýza byla provedena postupným přidáním α -amylasy a glukooamylasy.

Klíčová slova: *hydrolýza; odpadní chléb; amylasy; fermentace*

Úvod

Sacharidy a další živiny obsaženy v potravinovém odpadu jsou využitelné pro fermentace. Mikroorganismy využívají tyto látky pro tvorbu produktů využitelných na výrobu paliv, chemikálií nebo monomerů bioplastů [1.].

Hledání nových substrátů pro výrobu těchto látek je důležité z hlediska zvyšujících se cen surovin, mezi které patří například kukuřice, obiloviny a brambory [2.]. Celosvětově se však zvyšuje množství potravin, které se stávají odpadem. Hlavními skupinami jsou masné výrobky, ovoce a zelenina a pekařské výrobky. Největší procento odpadu z poslední zmíněné skupiny tvoří chléb [3.].

Potravinový odpad obsahuje nejčastěji polysacharidy, které musí být před fermentací hydrolyzovány. Čím účinnější hydrolýza proběhne, tím vyšších výtěžků při fermentaci je dosaženo. Předúprava substrátu, jakým je odpadní chléb, je proto před fermentací nezbytná. Jednou z typických předúprav polysacharidů je enzymatická hydrolýza [4.].

Cílem naší práce bylo nalezení vhodné předúpravy odpadního chleba před fermentací. Vyzkoušeli jsme proto různé druhy hydrolýz a podmínek, které jsme porovnali.

Materiál a metody

Surovina

Pro experimenty byl použit pšenično-žitný chléb (po uplynutí doby spotřeby). Surovina nebyla napadena plísní. Před hydrolýzou byl chléb rozemlet pomocí mixéru. Vlhkost chleba činila 10,24 % (w/w) a obsah škrobu byl 64,48 % (w/w).

Hydrolýzy

Na chemické hydrolýzy byly použity tři různé kyseliny (H_2SO_4 , HNO_3 , HCl) o třech koncentracích (1% w/v, 5% w/v, 10% w/v). Dále byly použity dvě různé zásady (NaOH , KOH) o třech koncentracích (5% w/v, 10% w/v, 15% w/v). Chemické hydrolýzy byly provedeny za teploty 100 °C po dobu 1. hodiny. Kyseliny a zásady byly přidány do suspenze v množství, která odpovídala vypočteným koncentracím.

Pro enzymatickou hydrolýzu byly použity 2 enzymy. Pro ztekucení byla použita α -amylasa (BAN 240 L) a pro sacharifikaci glukoamylasa (AMG 300 L). Ztekucení α -amylasou trvalo po dobu 4 hodin, poté byla přidána glukoamylasa na sacharifikaci, která probíhala 1 hodinu a 45 minut. Enzymy byly získány od firmy Novozyme.

Fyzikální hydrolýzy byly provedeny v mikrovlnné troubě s použitím dvou časů (2 a 4 minuty) a třech mikrovlnných výkonů (385 W, 540 W a 700 W). Jako další byla provedena hydrolýza v ultrazvukové lázni, kde byla suspenze chleba a vody ponechána po dobu 15 minut.

Analytické metody

Vlhkost chleba byla změřena metodou stanovení vlhkosti v obilovinách (ČSN ISO 712). Obsah škrobu ve zkoumaném materiálu byl stanoven polarimetricky metodou podle Ewerse (ČSN 56051216).

Výtěžky jednotlivých hydrolýz byly stanoveny spektrofotometricky metodou podle Somogyi-Nelsona. Množství redukujících sacharidů bylo vztaženo na množství glukosy.

Výsledky a diskuse

Bylo zjištěno, že z kyselých hydrolýz bylo získáno nejvíce redukujících sacharidů při použití 10% kyseliny dusičné, a to $4,92 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Jak bylo předpokládáno, účinnost hydrolýz se zvyšovala se zvyšující se koncentrací kyselin. Jednotlivé výtěžky redukujících sacharidů jsou shrnuty v Tabulce 1.

Podobný trend, jako u kyselých hydrolýz byl pozorován u hydrolýz alkalických. Opět se zvyšující se koncentrací hydroxidu se zvyšovala účinnost hydrolýzy. Oproti kyselinám však hydroxidy byly méně účinné a výtěžky nedosahovaly takových hodnot. Nejvíce redukujících sacharidů vzniklo použitím 15% NaOH , a to $0,69 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Konečné výtěžky jednotlivých alkalických hydrolýz jsou shrnuty v Tabulce 2.

Z fyzikálních hydrolýz byla nejúčinnější metoda s využitím mikrovlnné trouby při výkonu 540 W po dobu 4 minut. Tímto způsobem bylo získáno $1,74 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ redukujících sacharidů. Ostatní výtěžky jsou shrnuty v Tabulce 3.

Enzymatickou hydrolýzou bylo získáno $70,75 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ redukujících sacharidů. Z výtěžku je patrné, že enzymatická hydrolýza je nejúčinnější v porovnání s chemickými a fyzikálními. Vzhledem k relativně vysoké ceně enzymu je však žádané nalézt levnější metodu hydrolýzy využitelnou i v průmyslu. Grafické srovnání chemických a fyzikálních metod je znázorněno na Obrázku 1. Enzymatické metody zde nejsou znázorněny, jelikož se stal graf nepřehledným.

Tabulka 1. Množství vzniklých redukujících cukrů při kyselé hydrolyze

c [g·l ⁻¹]	H ₂ SO ₄	HNO ₃	HCl
1%	0,90	0,74	0,96
5%	1,71	2,05	1,19
10%	2,97	4,92	1,54

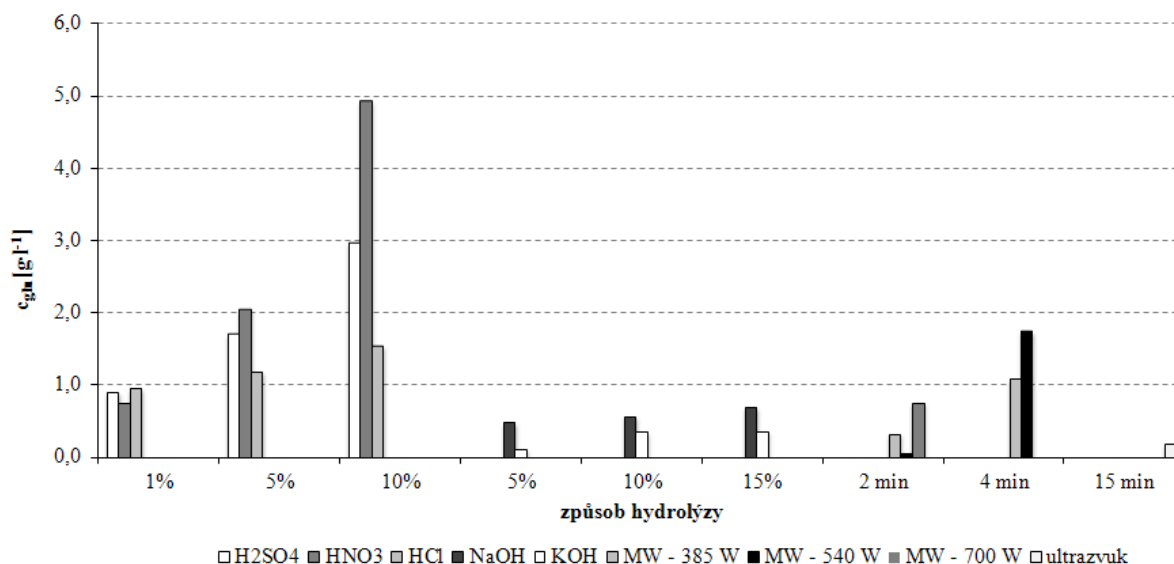
Tabulka 2. Množství vzniklých redukujících cukrů při alkalické hydrolyze

c [g·l ⁻¹]	NaOH	KOH
5%	0,48	0,12
10%	0,57	0,35
15%	0,69	0,36

Tabulka 3. Množství vzniklých redukujících cukrů při fyzikální hydrolyze

	2 minuty	4 minuty
Mikrovlnka	385 W	0,33
	540 W	0,06
	700 W	0,75
15 minut		
Ultrazvuk	0,19	

*vzorek nebylo možno odebrat a změřit

**Obrázek 1** - Srovnání účinností jednotlivých hydrolyz podle výtěžků redukujících sacharidů

Závěr

Cílem naší práce bylo porovnání účinnosti různých typů hydrolyz. Byly provedeny chemické, fyzikální a enzymatické hydrolyzy. Porovnáním výsledků bylo zjištěno, že

nejúčinnějším typem hydrolýzy pro odpadní chléb je enzymatická. Pomocí enzymů bylo získáno $70,75 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ redukujících sacharidů.

Chemická hydrolýza se dle výsledků jevila jako druhá neúčinnější, jelikož dosahovala druhých nejvyšších výsledků redukujících cukrů. Z chemických hydrolýz byla neúčinnější kyselá hydrolýza 10% kyselinou dusičnou. Výsledná koncentrace redukujících sacharidů byla $4,92 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.

Jako nejméně účinné se projeví fyzikální hydrolýzy. Zde bylo získáno nejvíce redukujících sacharidů využitím mikrovlnné trouby při výkonu 540 W po dobu 4 minut. Výtěžek v tomto případě činil $1,74 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ redukujících sacharidů. Zefektivnění jednotlivých metod může být dosaženo jejich kombinací, což bude předmětem dalšího výzkumu.

Literatura

- [1.] LEUNG, C., CHEUNG, A., ZHANG, A., LAM, K., LIN, C.. *Utilisation of waste bread for fermentative succinic acid production*. Biochemical Journal. Engineering, 2012, roč. 65, s. 10-15.
- [2.] EBRAHIMI, F., KHANAHMADI, M., ROODPEYMA, S. & TAHERZADEH, M.. *Ethanol production from bread residues*. Biomass and Bioenergy, 2008, roč. 32, č. 4, s. 333337.
- [3.] KOSSEVA, Maria R, Colin WEBB. *Food industry wastes: assessment and recuperation of commodities*. Singapore: Elsevier/Academic Press, 2013, 312 s. ISBN 01-239-1921-5.
- [4.] PIETRZAK, W., KAWA-RYGIELSKA, J.. *Ethanol fermentation of waste bread using granular starch hydrolyzing enzyme: Effect of raw material pretreatment*. Fuel, 2014, roč. 134, s. 250-256.

Abstract

Finding the optimal conditions for the hydrolysis of polysaccharide substrates is nowadays important for use of these materials for fermentation. An important factor in optimizing the hydrolysis is costs. Therefore, we studied the effectivity of chemical, physical and enzymatic hydrolysis. These methods we also compared.

The yields of individual hydrolysis were determined spectrophotometrically by the method of Somogyi-Nelson. As substrate for hydrolysis was used waste bread. It was pre-treated by grinding into small particles and then it was made to form 15% w/v suspension. For chemical hydrolysis were used acids (H_2SO_4 , HNO_3 , HCl) and alkalies (NaOH , KOH) at different concentrations. For physical hydrolysis was used microwave and ultrasonic pretreatment. Enzymatic hydrolysis was performed by sequentially addition of α -amylase and glucoamylase.