

Využitie kukuričného oleja na produkciu bionafty a separáciu fytosterolov ako látok s vysokou pridanou hodnotou

Roksolana Fromel¹, Ján Janošovský², Valentína Kafková², Adriana Brisudová³, Michal Fulín⁴, Róbert Kubinec⁴

¹Združenie Energy 21, Trnavská cesta, 920 41 Leopoldov, Slovensko,

²Centrum výskumu a vývoja, s.r.o., Trnavská cesta 1033/7, 920 41 Leopoldov, Slovensko,

³ENVIRAL, a.s., Trnavská cesta, 920 41 Leopoldov,

⁴Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra analytickej chémie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava.

Abstrakt

Fytosteroly sú biologicky aktívne zlúčeniny s vysokou pridanou hodnotou, ktorých trhovú cenu niekoľkonásobne prevyšuje cena biopalív. Post-fermentačný kukuričný olej, ktorý vzniká ako vedľajší produkt pri spracovaní bioetanolu, a používa sa ako surovina na výrobu bionafty, prirodzene obsahuje fytosteroly vo voľnej alebo viazanej forme (sterolestery, sterolglykozidy). Voľné fytosteroly a sterolglykozidy môžu nepriaznivo ovplyvniť stabilitu a kvalitu výsledného biopaliva. Na druhej strane sa rastlinným sterolom v súčasnosti venuje čoraz väčšia pozornosť z dôvodu ich pozitívnych účinkov na zdravie človeka, najmä v súvislosti s metabolizmom tukov, znížením hladiny cholesterolu v krvi a prevenciou či liečbou kardiovaskulárnych ochorení. Práca sa zameriava na vývoj technologického postupu, ktorý umožní izoláciu fytosterolov ekologicky šetrným spôsobom a zároveň zabezpečí zachovanie alebo zlepšenie požadovaných kvalitatívnych parametrov bionafty. Experimentálne bolo preukázané, že fytosteroly sa počas výroby bionafty distribuujú predovšetkým do vedľajších frakcií a kľúčovým faktorom pre ich účinnú separáciu je ich koncentrácia v surovine, kukuričnom oleji.

Kľúčové slová: fytosteroly, kukuričný olej, bionafta

Úvod

Rastlinné steroly, známe ako fytosteroly (PhS z angl. phytosterols), sú biologicky aktívne zlúčeniny prítomné v rastlinách, ktoré prinášajú významné zdravotné benefity, najmä v súvislosti so znižovaním hladiny cholesterolu v krvi [1]. Vyskytujú sa v rôznych formách, ako voľné steroly alebo viazané formy, vrátane sterylglukozidov, esterifikovaných sterolov a acylovaných sterylglukozidov. Bežné rastlinné zdroje zahŕňajú zeleninu, ovocie, strukoviny a rastlinné oleje. Medzi najrozšírenejšie patria β -sitosterol, stigmasterol a kampesterol, pričom β -sitosterol je považovaný za sľubné nutraceutikum aj v súvislosti s manažmentom cukrovky [2].

Vďaka svojim vlastnostiam nachádzajú PhS využitie v rôznych priemyselných odvetviach. V potravinárstve sa pridávajú do výrobkov, ako sú tukové nátierky, jogurty či mliečne produkty, pričom denný príjem 2–3 g môže významne znížiť absorpciu cholesterolu v tráviacom trakte a jeho koncentráciu v sére. Používanie esterifikovaných PhS v potravinách je regulované nariadením Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 258/97 [3]. V kozmetickom priemysle pôsobia ako účinné emolienty, ktoré podporujú hydratáciu pokožky a posilňujú jej ochrannú funkciu. Sú súčasťou produktov viacerých kozmetických značiek, napríklad The Ordinary, Bioderma či Avène.

Izolácia PhS s vysokým výťažkom a čistotou zo surových olejov alebo vedľajších produktov rafinácie je predmetom intenzívneho výskumu, keďže ide o látky s významnou pridanou hodnotou. Okrem tradičných zdrojov sa čoraz väčšia pozornosť sústreďuje na vedľajšie prúdy z výroby biopalív, ktoré predstavujú potenciálne cennú surovinu a zároveň podporujú princípy obehového hospodárstva.

Kukuričný olej ako zdroj fytosterolov

PhS sú prirodzenou súčasťou olejov získavaných zo semien rôznych rastlín, ako sú slnečnica, kukurica, sója, oliva či repka, ako aj talový olej – vedľajší produkt spracovania celulózy z ihličnatých drevín. Koncentrácia a zloženie PhS sa líšia podľa druhu rastliny, z ktorej pochádzajú. Kukuričný olej

(KO) patrí medzi oleje s druhou najvyššou koncentráciou PhS, obsahuje 0,08-0,12 % celkových tokoferolov (z toho 70–80 % tvoria γ -tokoferoly) a 1,3-2,3 % nezmydeliteľných látok, pričom približne 60 % z nich tvoria steroly – beta-sitosterol, campesterol a stigmasterol [1].

Spoločnosť ENVIRAL, a. s., pracuje s viacerými komoditami, ktoré by mohli byť potenciálne využité na separáciu fytosterolov, najmä sa jedná o post-fermentačný KO. Analýzou bolo zistené, že post-fermentačný KO, produkovaný ako vedľajší produkt výroby bioetanolu v spoločnosti obsahuje približne v rozsahu od 0,4-2 % PhS vo voľnej a esterifikovanej forme. KO, v súčasnosti sa používa aj ako surovina na výrobu bionafty. Tento olej prirodzene obsahuje PhS, ktoré môžu nepriaznivo ovplyvniť stabilitu a kvalitu výsledného biopaliva. Z technologického hľadiska sú tieto zlúčeniny nežiaducimi zložkami, keďže môžu znižovať stabilitu paliva a pri dlhodobom skladovaní viesť k precipitácii tuhých látok. Je známe, že sterylglukozidy majú v bionaftě obmedzenú rozpustnosť a pri znížení teploty kryštalizujú, čo môže spôsobovať problémy pri prevádzke motorových vozidiel, ako upchávanie palivových filtrov [4]. Izolácia týchto zlúčenín preto nielenže umožňuje efektívne zhodnotiť vedľajšie produkty výroby bioetanolu, ale zároveň zlepšuje kvalitu a stabilitu bionafty.

Fytosteroly v bionaftě

Vlastnosti bionafty ovplyvňujú vedľajšie produkty transesterifikačnej reakcie, medzi ktoré patria voda, voľné a viazané glyceridy, voľné masné kyseliny, zvyšky katalyzátora, alkohol a nezmydeliteľné látky, ako sú rastlinné steroly, tokoferoly a uhľovodíky. Spomedzi bežných sterolov sa ukázalo, že sterylglukozidy sú hlavnou zložkou zrazenín bionafty, čím zvyšujú riziko upchatia palivových filtrov a obmedzujú jej praktickú použiteľnosť. Počas procesu transesterifikácie sa acylované sterylglukozidy môžu alkalickými katalyzátormi premieňať na voľné sterolové glukozidy, čo zvyčajne vedie k ich vyššej koncentrácii v bionaftě než v pôvodnom oleji [4].

Izolácia PhS z KO používaného na výrobu bionafty alebo priamo z bionafty predstavuje významný potenciál na získanie zlúčenín s vyššou pridanou hodnotou. Získanie a čistenie PhS je technicky náročné vzhľadom na ich nízku koncentráciu v olejnatých semenách. Významné množstvá sa však nachádzajú v deodorizačných frakciách, ktoré vznikajú ako vedľajšie produkty pri rafinácii rastlinných olejov. Komerčne sa PhS izolujú predovšetkým z vedľajších produktov rafinácie rastlinných olejov, ako sú deodorizačné destiláty, alebo z bionafty produkovanej z rastlinných olejov.

Priama separácia fytosterolov z kukuričného oleja

Priame získavanie PhS z KO bolo testované pomocou dvoch technológií: priamej extrakcie PhS organickými rozpúšťadlami a filtrácie schladeného oleja s následnou extrakciou PhS z filtračného koláča. Priama extrakcia PhS z KO organickými rozpúšťadlami bola testovaná s cieľom izolovať tieto zlúčeniny priamo z oleja. Použité boli rozpúšťadlá ako metanol, etylénglykol, acetonitril, dimetylformamid, glycerol, dimetylsulfoxid a kyselina octová. KO sa zmiešal s definovaným rozpúšťadlom, zahrial na 40 °C a následne ochladil, pričom sa sledovala tvorba fázového rozhrania a prípadná kryštalizácia PhS. Fázové rozhranie sa pozorovalo iba pri niektorých zmesiach, kryštalizácia nastala len pri extrakte s etylénglykolom. Analýza extraktov pomocou tenkovrstvovej chromatografie však nepreukázala prítomnosť PhS.

Rovnako neúspešná bola filtrácia schladeného oleja a následná extrakcia PhS z filtračného koláča. Predpokladalo sa, že ochladením oleja dôjde ku kryštalizácii fytosterolov spolu s ďalšími nezmydeliteľnými zložkami, ako sú vosky. Po filtrácii však vznikol produkt svetlo hnedej farby, ktorý po analýze pomocou tenkovrstvovej chromatografie a nukleárnej magnetickej rezonancie neobsahoval žiadne PhS, čím sa hypotéza o možnej separácii fytosterolov priamo z KO nepotvrdila. Dôvodom nemožnosti priamej separácie je prítomnosť rôznych foriem fytosterolov. Sterolestery, ktoré sú prirodzene prítomné v oleji, zvyšujú rozpustnosť voľných sterolov, čím bránia ich kryštalizácii. Tento predpoklad bol overený pridaním sterolestery do zmesí voľných sterolov a stanolov, kde sa ukázalo, že výťažnosť kryštalizovaných PhS sa významne znižuje a s rastúcim obsahom sterolestery klesá aj čistota získaného produktu. Tieto zistenia poukazujú na to, že priame separačné metódy zo surových

rastlinných olejov majú zásadné obmedzenia, a preto je efektívnejšie vychádzať z vedľajších produktov rafinácie, ako sú deodorizačné frakcie, kde je koncentrácia PhS vyššia a ich izolácia prakticky realizovateľná.

Separácia fytosterolov z bionafty

Komerčná technológia separácie FS zo sójového alebo repkového oleja je v niektorých spoločnostiach vedená z bionafty, resp. z destilačného zvyšku po finálnej destilácii bionafty. Výhodou tohto spôsobu separácie FS je vyšší výťažok separácie. Pri rafinácii rastlinného oleja sa proces deodorizácie používa na odstránenie prchavých zápachajúcich zlúčenín, voskov, voľných mastných kyselín, pigmentov a oxidačných produktov. Spolu s týmito nežiaducimi látkami sa odstraňujú aj PhS a tokoferoly, čím vznikajú cenné dezodoračné kaly, ktoré sú jednou z hlavných surovín PhS [3].

V rámci experimentov boli testované rôzne spôsoby výroby bionafty a následnej separácie PhS z filtračného koláča.

Pri skúmaní možností separácie PhS z destilátu KO bol realizovaný experiment, v ktorom bola vzhľadom na zvýšený obsah voľných mastných kyselín zvolená metóda kyslej esterifikácie s kyselinou sírovou. Destilát KO bol získaný krátkocestnou destiláciou (SPD, z angl. *short path distillation*). Hlavný rozdiel oproti klasickej dezodorizácii spočíva vo veľmi krátkom kontakte destilovanej látky s teplom, len niekoľko sekúnd oproti niekoľkým minútam v dezodorizačnej kolóne. Použitím SPD sa znižuje riziko deštrukcie PhS a umožňuje využitie vyšších teplôt, napríklad 260 °C, čím sa zvyšuje účinnosť separácie. Proces výroby bionafty prebiehal v sklenenom miešacom reaktore s objemom 1 L pri teplote 80 °C, rýchlosti miešania 800 ot./min, tlaku 0,9 bar a dobe reakcie 4 hodiny. Po separácii kyselinovej a esterovej fázy bol z esterovej fázy premytím odstránený prebytočný metanol, pričom došlo k vypadnutiu časti sterolov. Po druhom premytí a odstránení vody bola vzorka ochladená na 5 °C a centrifugovaná, čím sa získala sterolová frakcia. Kryštály sterolov, ktoré boli predtým dôkladne prečistené, boli podrobené analýze pomocou plynovej chromatografie spojenej s hmotnostnou spektrometriou (GC-MS). Identifikácia sa robila porovnaním MS spektier s databázou hmotnostných spektier NIST. V dodanej vzorke boli identifikované tri hlavné PhS: campesterol, stigmasterol a γ -sitosterol. Campesterol a stigmasterol boli pomerovo v približne rovnakých množstvách. γ -sitosterol bol zastúpený v najvyššom množstve a to až 5-6,5 krát väčšom oproti zvyšným dvom sterolom (Tab. 1). Esterová fáza po kyslej esterifikácii sa následne podrobila transesterifikácii s metanolátom sodným s cieľom zvýšiť obsah metylesterov mastných kyselín (FAME). Izolácia PhS z degumovaného destilátu kukuričného oleja bola úspešná, avšak obsah FAME vo vzorke dosahoval iba 88,7 % hm., čo nespĺňa legislatívne požiadavky pre bionaftu podľa normy STN EN 14214:2019 z hľadiska obsahu FAME (min. 96,5 % m/m). Tento výsledok naznačuje, že reakčná národa nebola dostatočne vysušená a množstvo katalyzátora použitého na transesterifikáciu nebolo postačujúce.

Tabuľka 1: Kvalitatívna analýza sterolov

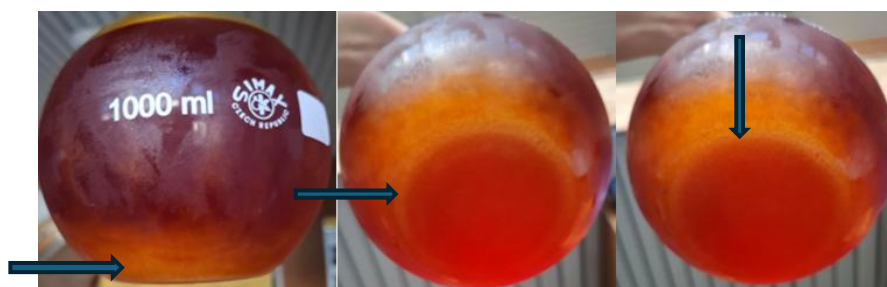
Zlúčenina	Retenčný čas (min)	Plocha	% plochy
Campesterol	10.548	23689595	15.75
Stigmasterol	10.641	17130285	11.39
γ -Sitosterol	10.819	109543418	72.85

Za účelom overenia opakovateľnosti separácie PhS boli uskutočnené ďalšie experimenty. V prvom postupe sa na výrobu bionafty použil destilovaný KO, zatiaľ čo druhý postup využíval destilát KO (Obr. 1). Na prípravu východiskových surovín bol použitý surový KO bez predchádzajúceho degumingu, aby sa minimalizovala strata PhS počas rafinácie, pričom následne bol podrobený SPD destilácii.



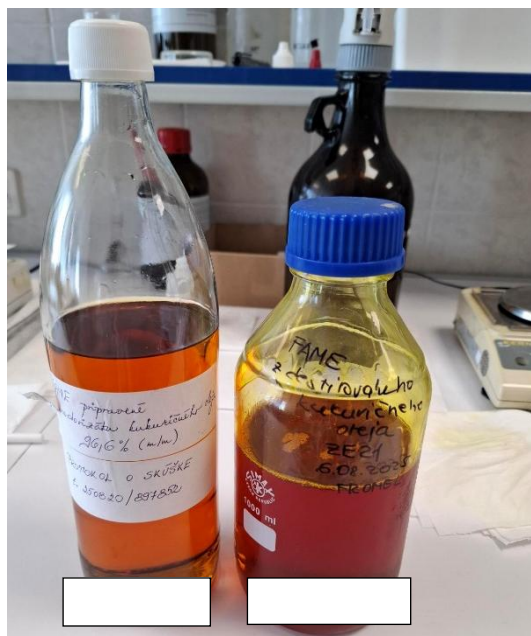
Obrázok 1: Porovnanie surového KO, destilovaného KO a destilátu po vykonaní SPD

Na výrobu bionafty bol v prvom experimente použitý destilovaný KO podrobený zásaditej dvojstupňovej transesterifikácii. Po ukončení procesu sušenia bola výsledná bionafta ochladená a uchovávaná pri teplote 4 °C počas troch dní, aby sa overilo, či dôjde k separácii PhS. Po tomto období bola vo vzorke pozorovaná sedimentácia a tvorba kryštálov (Obr. 2).



Obrázok 2: FAME po ochladení (šípkami je vyznačená sedimentácia – tvorba kryštálov)

V druhom experimente bol destilát KO použitý na prípravu bionafty prostredníctvom kyslej esterifikácie s koncentrovanou kyselinou sírovou v prítomnosti metanolu, a následnou transesterifikáciou s hydroxidom draselným za prítomnosti metanolu. Izolácia PhS z tejto vzorky nebola úspešná. Vzorky bionafty (Bionafta 1 a 2) získané z oboch experimentov (Obr. 3) boli následne analyzované s cieľom porovnať základné parametre bionafty s požiadavkami normy STN EN 14214 (Tab. 2).



Obrázok 3: Finálne produkované vzorky bionafty

Tabuľka 2: Základné parametre bionafty a legislatívne požiadavky (STN EN 14214)

	Bionafta 1: z destilátu KO	Bionafta 2: z destilovaného KO	STN EN 14214

Obsah FAME (hm. %)	96,6	56,5	>96,5
Obsah vody [hm. %]	0,038	0,190	<0,05
Číslo kyslosti [mg KOH/g]	0,62	0,68	<0,5
P [mg/kg]	0,94	0,91	<4
Ca [mg/kg]	0,04	0,47	<5
Mg [mg/kg]	0,01	0,01	
Na [mg/kg]	0,53	23,81	
K [mg/kg]	7,84	7,64	<5
S [mg/kg]	13,92	6	<10
Obsah monoG [hm. %]	0,595	-	<0,7
Obsah diG [hm. %]	0,083	-	<0,2
Obsah triG [hm. %]	-	-	<0,2
Obsah voľnýG [hm. %]	-	-	<0,02
Obsah celkG [hm. %]	-	-	<0,25
Obsah metanolu [hm. %]	0,0017	0,046	<0,2
Hustota [g/cm³]	0,8842	0,9043	0,860-0,900
CFPP [°C]	+1	-2	-
CP [°C]	0	7	-
PP [°C]	+2	-10	-
Ox. stabilita [h]	5,2	5,2	>8

Bionafta 1 spĺňala legislatívne požiadavky na obsah FAME vo výslednej bionafte, ako aj väčšinu ďalších parametrov, výnimkou však bolo číslo kyslosti a obsah síry a draslíka. Naopak, vo vzorke Bionafta 2 bol obsah FAME nižší ako požadujú legislatívne normy, zároveň bol zistený zvýšený obsah vody, čo naznačuje potrebu dôkladnejšieho odparenia vzorky. Takto pripravená bionafta nie je vhodná na priame použitie do motorovej nafty. Okrem toho v danej vzorke bol zistený aj zvýšený obsah draslíka a sodíka. Ani jedna zo vzoriek bionafty nespĺňala požiadavky na číslo kyslosti v dôsledku prítomnosti nezreagovaných voľných mastných kyselín, a zároveň žiadna nepreukázala legislatívne požadovanú oxidačnú stabilitu, čo by si vyžiadalo dodatočné náklady na aplikáciu antioxidačných aditív.

Na stanovenie obsahu PhS bola analyzovaná vzorka zo sedimentu prvého experimentu, ako aj vzorky vstupných surovín a medziproduktov (zmydelnený podiel, glycerín) a bionafty z dvoch experimentov. Pred samotnou analýzou boli vzorky derivatizované silylačným činidlom a obsah PhS (Tab. 3) bol kvantifikovaný vysokoteplotnou plynovou chromatografiou s detekciou plameňovo-ionizačným detektorom (HT GC-FID).

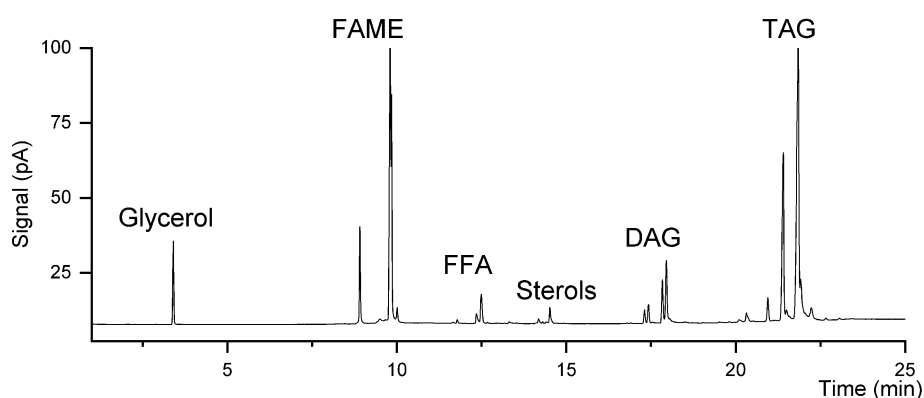
Výsledky analýz v experimente 1 preukázali, že sediment, respektíve vytvorené kryštály, neobsahovali PhS, ale pravdepodobne nezreagované voľné mastné kyseliny. Ďalšie analýzy sedimentu ukázali, že obsah FAME, vyjadrený ako súčet voľných mastných kyselín a metylesterov mastných kyselín, predstavoval približne 88 %, čo potvrdzuje, že kryštály pozostávali prevažne z nezreagovaných voľných mastných kyselín. Separácia PhS preto, podobne ako v experimente 2, nebola úspešná. Podobný výsledok bol zaznamenaný aj pri príprave bionafty z kávového oleja dvojstupňovou transesterifikáciou [5]. Po ukončení reakcie bola vzorka bionafty ochladená, následne prefiltrovaná za studena a získaný filtračný koláč bol podrobený kvalitatívnej analýze. Predpokladalo sa, že by mohol obsahovať PhS alebo vosky, ktoré sa po ochladení bionafty zvyknú vylučovať vo forme kryštálov

(pozorovateľný zákal bionafty). Analýzy však preukázali, že kryštalickú frakciu tvorili prevažne nezreagované voľné mastné kyseliny, pričom PhS boli detegované len v stopových množstvách.

Tabuľka 3: Kvantifikácia PhS vo vzorkách bionafty a medziproduktoch

Experiment	Názov vzorky	Relatívny obsah PhS (% plochy)
Experiment 1	Destilovaný KO	0,4
	Zmydelnený podiel	2,7
	Glycerínová fáza	0,5
	Sedimenty (biela usadenina) z FAME	nedetegované
	Bionafta 2	0,7
Experiment 2	Destilát KO	0,4
	Kyselinová fáza	nedetegované
	Bionafta 1	1

Zároveň výsledky uvedené v Tab. 3 ukazujú v experimente 1 bol najvyšší obsah PhS stanovený v zmydelnom podiele (2,7 %), zatiaľ čo vo finálnej bionafte 2 dosahoval iba 0,7 %. V glycerínovej fáze bol obsah fytosterolov 0,5 % a v destilovanom KO 0,4 %, čo predstavuje nízke hodnoty v porovnaní s literárnymi údajmi o vedľajších produktoch rafinácie olejov, ktoré sa využívajú na priemyselnú izoláciu sterolov. V experimente 2 sa PhS v kyselinovej fáze nedetegovali, zatiaľ čo vo finálnej bionafte 1 bola ich koncentrácia približne 1,0 % a v destiláte KO 0,4 %. Tieto výsledky naznačujú, že PhS sa počas výroby bionafty distribuujú predovšetkým do vedľajších frakcií, pričom ich obsah vo finálnych produktoch zostáva nízky. Zároveň sa potvrdzuje, že nízky obsah fytosterolov vo východiskovej surovine predstavuje problém pre ich efektívnu separáciu a koncentrovanie.



Obrázok 4: Chromatografický záznam z HT-GC-FID analýzy vzorky zmydelnený podiel (FAME – metylestery mastných kyselín, DAG – diacylglyceroly, TAG – triacylglyceroly/tuky)

Záver

Produkcia a izolácia PhS z obnoviteľných zdrojov predstavuje perspektívnu oblasť výskumu aj priemyselnej praxe, keďže ide o biologicky aktívne zlúčeniny s významnými liečivými účinkami. V súlade s trendom udržateľnosti sa čoraz väčšia pozornosť venuje ich získavaniu nielen zo semien rastlín, ale aj z vedľajších produktov spracovania olejov a výroby bionafty. Priama separácia PhS zo samotného kukuričného oleja sa v experimentoch nepotvrdila. Izolácia PhS z bionafty pripravenou kyslou esterifikáciou bola čiastočne úspešná, avšak opakované pokusy nepreukázali reprodukovateľnú separáciu, čo naznačuje potrebu optimalizácie technologického postupu. PhS sa počas výroby bionafty distribuujú predovšetkým do vedľajších frakcií, pričom nízky obsah PhS vo východiskovej surovine

obmedzuje ich efektívnu separáciu a koncentrovanie. Na druhej strane, nízky obsah PhS v kukuričnom oleji predstavuje výhodu pre výrobu bionafty vyššej kvality.

Zdroje

- [1] Barrera-Arellano, D.; Badan-Ribeiro, A. P.; & Serna-Saldivar, S. O. Corn oil: composition, processing, and utilization. In: Corn. AACC International Press. **2019**, 593-613.
- [2] Gachumi, G.; Bashi, Z.; & El-Aneed, A. New green extraction approach for the isolation of Phytosterols from canola oil deodorizer distillate. Food Chemistry. **2025**, 492 (2),145482.
- [3] Carmona, M. A.; Jiménez, C.; Jiménez-Sanchidrián, C.; Peña, F.; Ruiz, J. R. Isolation of sterols from sunflower oil deodorizer distillate. Journal of Food Engineering. **2010** 101(2), 210-213.
- [4] Longanesi, L.; Pereira, A. P.; Johnston, N.; Chuck, C. J. Oxidative stability of biodiesel: recent insights. Biofuels, Bioproducts and Biorefining. **2010**, 16(1), 265-289.
- [5] Kafková, V.; Kubinec, R.; Mikulec, J.; Variny, M.; Ondřejíčková, P.; Ház, A.; Brisudová, A. Integrated Approach to Spent Coffee Grounds Valorization in Biodiesel Biorefinery. Sustainability **2023**, 15, 5612.

Pod'akovanie

Tento výskum je financovaný z prostriedkov Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV) z projektov pod registračným číslom: APVV-21-0323 a APVV-20-0348.