

Upotreba suhog kukuruznog tropa s otopinom u hranidbi životinja

Matek, Sara

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:042929>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**UPOTREBA SUHOG KUKURUZNOG TROPA S
OTOPINOM U HRANIDBI ŽIVOTINJA**

DIPLOMSKI RAD

Sara Matek

Zagreb, rujan 2021.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Obnovljivi izvori energije u poljoprivredi

**UPOTREBA SUHOG KUKURUZNOG TROPA S
OTOPINOM U HRANIDBI ŽIVOTINJA**

DIPLOMSKI RAD

Sara Matek

Mentor:

doc. dr. sc. Marija Duvnjak

Zagreb, rujan 2021.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Sara Matek**, JMBAG 0178107277, rođena 02.06.1996. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

UPOTREBA SUHOG KUKURUZNOG TROPA S OTOPINOM U HRANIDBI ŽIVOTINJA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Sare Matek**, JMBAG 0178107277, naslova

UPOTREBA SUHOG KUKURUZNOG TROPA S OTOPINOM U HRANIDBI ŽIVOTINJA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. doc.dr.sc. Marija Duvnjak mentor

2. izv.prof.dr.sc. Goran Kiš član

3. doc.dr.sc. Vanja Jurišić član

Sadržaj

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | Uvod | 1 |
| 1.1. | Cilj rada..... | 3 |
| 2. | Proizvodnja bioetanola | 4 |
| 2.1. | Vrste etanola kao biogoriva – mješavine s benzinom..... | 6 |
| 2.2. | Postupci proizvodnje bioetanola..... | 6 |
| 2.2.1. | Priprema kukuruznog zrna..... | 8 |
| 2.2.2. | Priprema podloge za fermentaciju – "cooking" i saharifikacija..... | 8 |
| 2.2.3. | Fermentacija | 9 |
| 2.2.4. | Izdvajanje i pročišćavanje bioetanola | 10 |
| 2.2.5. | Skladištenje etanola | 11 |
| 3. | Sirovine za proizvodnju bioetanola s naglaskom na kukuruz | 12 |
| 4. | Suhi trop s otopinom (DDGS) | 14 |
| 4.1. | Izdvajanje DDGS-a | 14 |
| 4.2. | DDGS - bogat izvor proteina..... | 16 |
| 4.3. | Upotreba DDGS-a u hranidbi životinja: prednosti i ograničenja..... | 18 |
| 4.4. | Utjecaji procesa proizvodnje etanola na kvalitetu proteina DDGS-a..... | 18 |
| 4.4.1. | Temperatura..... | 19 |
| 4.4.2. | ADIN – dušik netopiv u kiselom deterdžentu..... | 20 |
| 4.4.3. | Aminokiseline | 20 |
| 4.4.4. | Postupak meljave | 21 |
| 4.4.5. | Dodatak kemikalija | 21 |
| 4.4.6. | Kvasac..... | 21 |
| 4.5. | Spajanje tokova proizvodnje | 22 |
| 4.6. | Varijabilnost i dostupnost hranjivih tvari DDGS-a..... | 22 |
| 5. | Upotreba DDGS-a u hranidbi životinja | 23 |
| 5.1. | Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za preživače – mliječne krave i junad..... | 23 |
| 5.2. | Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za preživače – govoda | 25 |
| 5.3. | Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za svinje..... | 26 |

| | | |
|------|---|----|
| 5.4. | Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za perad..... | 27 |
| 5.5. | Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za ribe – kalifornijske pastrve | 28 |
| 6. | Zaključak..... | 29 |
| 7. | Literatura..... | 30 |
| 8. | Životopis | 38 |

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Sare Matek**, naslova

UPOTREBA SUHOG KUKURUZNOG TROPA S OTOPINOM U HRANIDBI ŽIVOTINJA

Brojni ekološki problemi povezani sa stočarskom proizvodnjom rezultiraju povećanjem konkurencije izvora hrane i hrane za životinje čime hrana za životinje predstavlja "prijetnju" globalnoj sigurnosti hrane. Potencijalna strategija koja bi mogla smanjiti konkurenciju hrane i hrane za životinje te ublažiti utjecaj stočarstva na okoliš je zamjena jestivih krmnih kultura biomasom nejestivom za ljude u hranidbi životinja. Primjer takve zamjene je korištenje suhog kukuruznog tropa s otopinom, DDGS-a. Suhi trop s otopinom nusproizvod je koji, uz CO₂, nastaje tijekom procesa proizvodnje etanola i koristi se u hranidbi mliječnih krava i junadi, goveda, svinja, riba te peradi. Bogat je hranjivim tvarima: proteinima, vlaknima i lipidima. Upotreba DDGS-a kao alternativnog krmiva u hranidbi životinja daje obećavajuće proizvodne rezultate uz istovremeno ekološki pozitivno smanjenje emisije stakleničkih plinova.

Ključne riječi: ekološki utjecaj, konkurencija hrane za ljude – hrane za životinje, DDGS, hranidba životinja

Summary

Of the master's thesis – student **Sara Matek**, entitled

USE OF CORN DISTILLER'S DRIED GRAINS WITH SOLUBLES IN ANIMAL NUTRITION

Numerous environmental problems associated with livestock production result in increased competition between food and feed sources making feed a “threat” to global food security. A potential strategy that could reduce food and feed competition and mitigate the environmental impact of livestock production is to replace edible forage crops in animal nutrition with biomass inedible for humans. An example of such substitution is the use of distiller's dried grains with solubles, DDGS. Distiller's dried grains with solubles is a by-product which, in addition to CO₂, is formed during the ethanol production and it is used in dairy cows and cattle, pigs, fish and poultry nutrition. It is rich in nutrients: proteins, fiber and lipids. The use of DDGS as an alternative feed provides promising production results with an environmentally positive reduction in greenhouse gas emissions.

Keywords: environmental impact, food – feed competition, DDGS, animal nutrition

1. Uvod

Posljednjih godina istovremeno povećanje populacije, urbanizacije i prihoda kućanstava, potaknulo je povećanju potražnje za životinjskim proteinom – mesom i mlijekom, što je rezultiralo globalnom potrebom za povećanjem stočarske proizvodnje (Herrero i Thornton, 2013.). Istovremeno, globalni sektor stočarstva ima i značajan ekološki utjecaj, tako stočarstvo doprinosi s 14,5 % ukupnih antropogenih emisija stakleničkih plinova, od čega sektor preživača doprinosi s najvećim udjelom od približno 81 %, i to najviše kroz emisiju metana (Gerber i sur., 2013.). Proizvodnja mesa preživača povezana je s visokim ekološkim troškovima u usporedbi s drugim stočarskim proizvodnjama. Juneće meso daje 300 kg CO₂-ekv/kg proteina, dok meso manjih preživača daje 165 kg CO₂-ekv/kg proteina pri čemu pokazuju najveći intenzitet emisije u usporedbi s kravljim mlijekom, piletinom i svinjetinom s <100 kg CO₂-ekv/ kg proteina (Gerber i sur., 2013.). Učinci stočarstva na okoliš povezani su s emisijama stakleničkih plinova, dušika i fosfora, degradacijom zemljišta, zagađenjem vode te gubitkom biološke raznolikosti (Steinfeld i sur., 2006.). Proizvodnja, transport i uporaba hrane za životinje ima važnu ulogu u onečišćenju okoliša kojeg se povezuje sa stočarskom proizvodnjom. Proizvodnja i prerada hrane za životinje povezana je s promjenama u korištenju zemljišta i čini približno 45 % emisija stakleničkih plinova iz stočarskog sektora (Gerber i sur., 2013.). Oko 70 % globalnog poljoprivrednog zemljišta (Steinfeld i sur., 2006.) i 30 – 40 % izvora hrane (Erb i sur., 2012.) trenutno se koristi za stočarsku proizvodnju. Brojni ekološki problemi povezani sa stočarskom proizvodnjom rezultiraju povećanjem konkurencije hrane i hrane za životinje čime hrana za životinje predstavlja "prijetnju" globalnoj sigurnosti hrane (Makkar, 2016.).

Istovremeno, preživači neizmjerljivo doprinose održivosti sustava prehrane zbog svoje sposobnosti pretvaranja nejestive hrane za prehranu ljudi, a koja se koristi kao hrana za životinje, u jestivi visoko-kvalitetni protein – meso i mlijeko (Oltjen i Beckett, 1996.). Zamjena jestivih krmnih kultura biomasom nejestivom za ljude u hranidbi životinja potencijalna je strategija koja bi mogla smanjiti konkurenciju hrane i hrane za životinje te ublažiti utjecaj stočarstva na okoliš (Salami i sur., 2019.). Poljoprivredni ostaci mogu biti u obliku biljnih ostataka ili nusproizvoda biljaka, odnosno PBP-a (engl. *plant by products, PBP*). Ostaci usjeva predstavljaju primarnu biomasu koja je ostala na farmi nakon žetve, dok je PBP sekundarna biomasa dobivena preradom usjeva nakon berbe u vrijedne proizvode poljoprivredno-prehrambene industrije (Johnson i Linke-Hepp, 2007.). PBP imaju bolju hranidbenu vrijednost od biljnih ostataka i mogu poslužiti kao održivi izvori proteina, energije i vlakana za zadovoljavanje hranidbenih potreba životinja. Ipak, uporaba PBP-a u hranidbi stoke ograničena je zbog varijabilnosti u sastavu hranjivih tvari koja je posljedica tehničkih postupaka za očuvanje, bitnih za stabilizaciju proizvoda i za omogućavanje cjelogodišnje dostupnosti navedenih proizvoda. Tako tehnološki procesi poput termičke obrade mogu rezultirati visokim troškovima proizvoda i smanjiti ekološku održivost hranidbe PBP-om (Bremer i sur., 2011.). S druge strane, inovacije u hranidbi temeljene na korištenju bioaktivno bogatih PBP-a mogu smanjiti emisije metana i zagađenja dušikom kod preživača, a poboljšati nutritivni sastav i kvalitetu trajanja mesa i mesnih proizvoda.

Krmne kulture, uglavnom jestive za ljude, a koje se koristi u hranidbi životinja, razlikuje se u različitim regijama svijeta. Erb i sur. (2012.) daju podatke po kojem Sjeverna Amerika i Europa koriste najviše vrsta krmnih kultura. Žitarice i uljarice, uključujući sjemenke uljarica, dominantne su kategorije krmnih kultura koje se koriste kao hrana za životinje u svim regijama svijeta. Kukuruz je glavna žitarica koja se koristi u hranidbi životinja u većini regija svijeta (Erb i sur., 2012.). Zrno kukuruza koristi se u prehrambene (žitarice, brašno, sirup, ulje) i neprehrambene svrhe (kozmetika, ljepila, boje, lakovi). Značajni nusproizvodi dobiveni od kukuruza su kukuruzni škrob i ulje (Ecocrop, 2010.). Zrno kukuruza glavno je krmno zrno i standardna komponenta u hranidbi životinja gdje se koristi kao izvor energije. Kukuruz zuban najrasprostranjenija je sorta kukuruza i ona koja se obično koristi za stočnu hranu (Heuzè i sur., 2017.).

Proizvodnja biogoriva iz obnovljivih izvora energije postaje prioritet u mnogim zemljama i predstavlja alternativu proizvodnji iz fosilnih izvora, ali i izazov u pogledu ekologije, tehnologije, ekonomije i društveno-političke situacije. Ovisno o vrsti korištene biomase biogoriva se dijele na: prvu generaciju (biogoriva proizvedena iz biomase bogate šećerom i škrobom), drugu generaciju (biogoriva proizvedena iz lignocelulozne biomase) i treću generaciju (biogoriva dobivena iz biomase mikroorganizama i algi) (Nigam i Singh, 2011.).

Sirovinu za proizvodnju biogoriva prve generacije čine uglavnom žitarice. Kukuruz se smatra jednom od najraširenijih sirovina, za proizvodnju biogoriva prve generacije, bogate škrobom (Rezić i sur., 2016.).

Trop (ostatak nakon izdvajanja tekuće faze iz ušećerenog koma na bazi škroba, engl. *distiller's grain, DG*) i suhi trop s otopinom (engl. *distiller's dried grain with solubles, DDGS*) postali su sve važniji izvor energije, proteina i vlakana u obroku preživača kao posljedica sve veće upotrebe žitarica u industriji biogoriva (FAO, 2012.). Uključivanjem 40 % ST visokomasnog suhog kukuruznog tropa u hranidbu, značajno je smanjena emisija CH₄ za približno 15 % - 20 % (u usporedbi s hranidbom na bazi ječma) u uzgoju goveda u tovu (Hünerberg i sur., 2013a), odnosno goveda (Hünerberg i sur., 2013b.). S druge strane, uključivanje 40 % ST pšeničnog suhog tropa nije utjecalo na proizvodnju CH₄, dok je dodavanje ulja u pšenični suhi trop smanjilo emisiju CH₄ kod goveda (Hünerberg i sur., 2013a.; Hünerberg i sur., 2013b.). Suprotno mogućem smanjenju proizvodnje CH₄, DDGS povećao je koncentraciju NH₃ (Khiaosa-Ard i sur., 2015.; Wu i sur., 2015.) i izlučivanje dušika u tovu goveda (Hünerberg i sur., 2013a.; Hünerberg i sur., 2013b.). Ova zapažanja ukazuju na to da upotreba DDGS-a u hranidbi daje obećavajuće proizvodne rezultate uz istovremeno ekološki pozitivno smanjenje emisije stakleničkih plinova, ali s druge strane uz mogući negativni ekološki utjecaj uslijed većih gubitaka N i P. Dakle, uključivanje DDGS-a u obrok životinja zahtijeva pažljivu prilagodbu hranidbe (Hünerberg i sur., 2014.).

1.1. Cilj rada

Proizvodnja etanola u svijetu je u porastu, a samim time raste i količina nusproizvoda i problem njihovog zbrinjavanja. Hranidba predstavlja mogući način zbrinjavanja. Cilj ovog diplomskog rada je na temelju analize literaturnih podataka obraditi hranidbene karakteristike najvažnijeg nusproizvoda proizvodnje etanola, suhog kukuruznog tropa s otopinom (engl. *Corn Distiller's Dried Grains with Solubles, corn DDGS*), kao i mogućnosti njegovog korištenja u hranidbi domaćih životinja. Dodatno su opisani i ključni koraci u procesu proizvodnje etanola te njihov mogući utjecaj na hranidbenu vrijednost DDGS-a s naglaskom na proteinima DDGS-a, kao najviše zastupljenoj hranjivoj tvari u ovom tipu alternativnog krmiva.

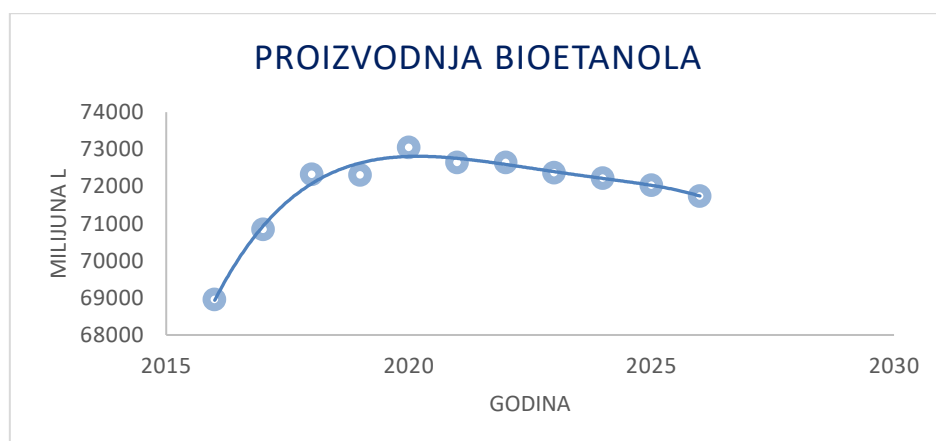
2. Proizvodnja bioetanola

Bioetanol je etanol ili etilni alkohol, C_2H_5OH , koji se koristi samostalno ili u mješavini s benzinom kao gorivo za motore s unutarnjim izgaranjem te tako pripada biogorivima koja se dijele na tri generacije goriva, ovisno o tipu sirovine iz koje se proizvode. Biogoriva prve generacije su goriva proizvedena iz šećernih i škrobnih sirovina, biljnih ulja i masti životinjskog podrijetla. Biogoriva druge generacije su goriva proizvedena iz lignocelulozne biomase dok su biogoriva treće generacije dobivena iz mikroorganizama i mikroalgi (Šantek i sur., 2016.).

Bioetanol se najčešće proizvodi iz šećernih sirovina kao što su šećerna trska ili repa te škrobnih sirovina kao što su žitarice, od kojih se najviše koristi kukuruz te krumpir (Marić 2000., Šantek i sur., 2016.). Osim iz šećernih i škrobnih sirovina, bioetanol se može proizvesti i iz lignoceluloznih sirovina. Prvi korak u proizvodnji etanola iz škrobnih i lignoceluloznih sirovina je hidroliza kompleksnih ugljikohidrata na jednostavne šećere kako bi ih radni mikroorganizam mogao iskoristiti odnosno fermentirati (Šantek i sur., 2016.). Uobičajena tehnologija za proizvodnju etanola je fermentacija u reaktoru s običnim kvascem za proizvodnju 8 – 10 %-tnog alkohola nakon 24 do 72 sata fermentacije. Nakon toga slijedi destilacija tog alkohola u nekoliko faza čime se dobiva 95 %-tni etanol. Za proizvodnju posve čistog etanola, kakav se koristi za miješanje s benzinom, dodaje se benzen i nastavlja destilacija te se dobiva 99,8 %-tni etanol (Marić 2000., Šantek i sur., 2016.).

Najviše zastupljena žitarica za proizvodnju bioetanola je kukuruz te je kukuruz primarna sirovina za proizvodnju etanola u Sjedinjenim Američkim Državama, koje s Brazilom daju 90 % svjetske proizvodnje etanola (Šantek i sur., 2016.). Općenito, proizvodnja bioetanola u svijetu raste (grafikon 2.1) unatoč kompeticiji sirovina prve generacije između hrane za ljude, hrane za životinje i sirovina za proizvodnju bioetanola (FAO, 2017.).

Na grafikonu 2.1. vidljiva je proizvodnja bioetanola u milijunima L u svijetu od 2016. godine uz predviđenu proizvodnju do 2026. godine.



Grafikon 2.1. Proizvodnja bioetanola u svijetu

Izvor: izrada autora prema OECD-FAO Agricultural Outlook (2017.)

(<https://stats.oecd.org/index.aspx?queryid=76849>)

Međutim, prema Direktivi 2009/28/EZ Europske unije, sve se više potiče proizvodnja biogoriva iz otpada, biljnih ostataka, neprehrambene celuloze, drvene celuloze i algi te proizvodnja biogoriva na degradiranim zemljištima država članica. Takva proizvodnja, druge generacije biogoriva korištenjem lignoceluloznih sirovina, smatra se pozitivnom jer ne dolazi do konkurencije u proizvodnji hrane i značajno su smanjene emisije stakleničkih plinova u odnosu na korištenje biogoriva prve generacije.

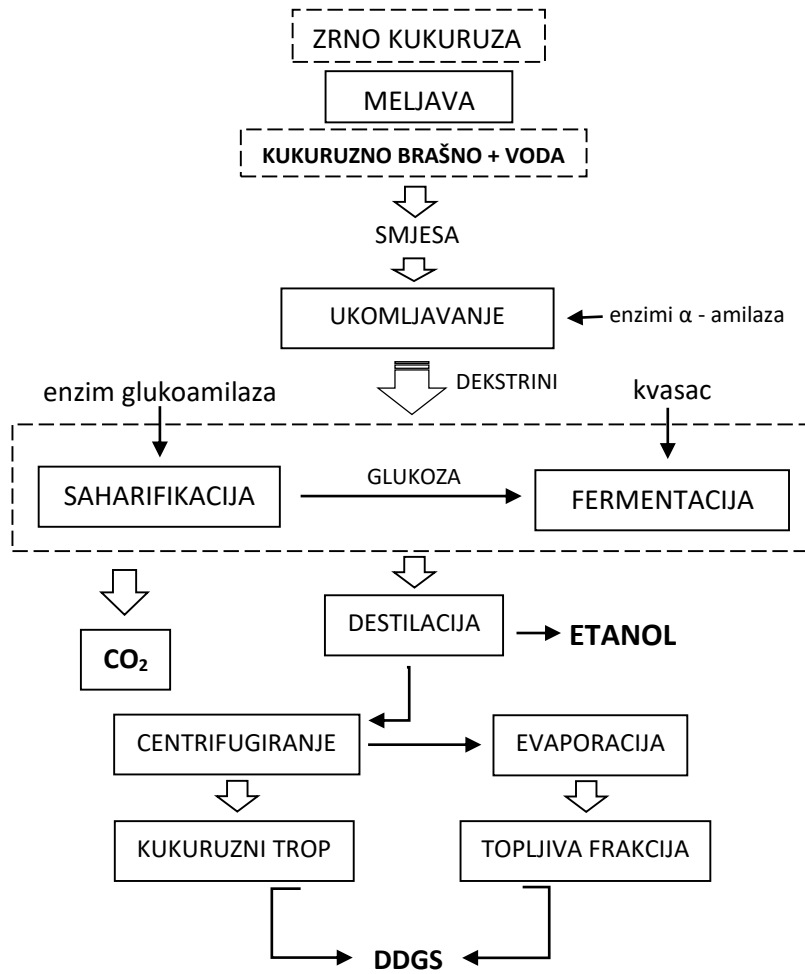
2.1. Vrste etanola kao biogoriva – mješavine s benzinom

Bioetanol, sintetiziran u proizvodnom pogonu u procesu fermentacije, koristi se kao čisto pogonsko gorivo ili kao gorivo u smjesi s benzinom. Za miješanje s benzinom koristi se bezvodni etanol minimalne čistoće od 99,5 – 99,8 % (φ). Vrste goriva razlikuju se prema omjerima etanola i benzina u smjesi. Smjese u kojoj etanol ima udio od 5 do 85 % uz dodatak benzina označavaju se E5 odnosno E85. Oznaka E5 je za benzin koji sadrži 5 % etanola. Smjesa s udjelom etanola od 85 % i dodatkom benzina od 15 %, odnosno E85, upotrebljava se samo u SAD-u i nekoliko europskih zemalja, ponajviše Švedskoj. Etanol koji sadrži 5 % vode, poznatiji kao E100, koristi se kao pogonsko gorivo u Brazilu. U Hrvatskoj je maksimalni dopušteni obujamski udjel etanola u smjesi s benzinom 7 – 10 % (INA, 2017.). Za upotrebu smjesa koje sadrže više od 20 % (φ) etanola, potrebne su preinake na motoru, dok se one s manjim udjelom mogu koristiti u većini suvremenih automobila pogonjenih benzinom (Šantek i sur., 2016.).

U pogledu kemijskog sastava i fizikalnih svojstava, etanol i benzin su izrazito različiti. Molekula etanola sadrži kisik, što rezultira potpunijim izgaranjem ugljikovodika. Nadalje, smanjene su emisije stakleničkih plinova, ugljikova dioksida i dušikovih oksida, kao i toksičnih aromatskih spojeva. Etanol je mnogo korozivniji i ima veću oktansku vrijednost. Miješanje etanola i benzina utječe na sadržaj kisika, hlapljivost i topljivost u vodi. Isto tako, dodavanjem etanola benzinu povećava se oktanski broj. S druge strane, alkoholna goriva slabije isparavaju, jer su temperatura paljenja i latentna toplina isparavanja etanola znatno više nego za benzin. Zbog toga dolazi do problema pri pokretanju vozila pri niskim temperaturama (Šantek i sur., 2016.).

2.2. Postupci proizvodnje bioetanola

Proces proizvodnje bioetanola obuhvaća postupke meljave i gnječenja, "cooking"-a, likvefakcije te saharifikacije koji pripadaju u fazu pripreme supstrata za daljnji proces fermentacije, nakon čega slijede procesi izdvajanja i pročišćavanja produkata s postupcima destilacije i dehidracije etanola te obradu nastale komine kroz postupke centrifugiranja, evaporacije i sušenja (Monceaux i Kuehner, 2009.). U nastavku slijedi detaljni opis koraka obrade (slika 2.1.).



Slika 2.1. Proces proizvodnje etanola prve generacije pomoću kvasca *Saccharomyces cerevisiae*.
Izvor: izrada autora prema Sapna i sur. (2011.)

2.2.1. Priprema kukuruznog zrna

Zastupljena su dva osnovna načina pripreme kukuruznog zrna prije hidrolize škroba do jednostavnih šećera, to su postupak mokre te suhe meljave. Mokra meljava uključuje razdvajanje zrna žitarica na njegove komponente (klicu, škrob, proteine i vlakna) prije fermentacije (Butzen i Haefele, 2008.), dok se u postupku suhe meljave, cijelo zrno kukuruza melje u kukuruzno brašno ili kukuruznu krupicu. Trenutno većina pogona za proizvodnju etanola koriste tehnologije suhe meljave zbog nižih troškova u proizvodnji, tako je prinos etanola po kilogramu kukuruza suhim postupkom meljave 0,41 L dok je u postupku mokre meljave 0,37 L (Šantek i sur., 2016.). Zatim se kukuruzno brašno miješa s vodom u omjeru 1 : 2,5-3 kako bi se dobila smjesa za daljnu obradu, takozvani "cooking" (Sapna i sur., 2011.).

2.2.2. Priprema podloge za fermentaciju – "cooking" i saharifikacija

Nakon pripreme kukuruznog zrna slijedi postupak ukomljavanja koji predstavlja skupni naziv za procese zagrijavanja, želatiniranja, likvefakcije i ošećerenja komine (Marić, 2000.).

U postupku "cooking"-a, zrnca škroba primaju vodu, brzo bubre i pucaju odnosno želatiniziraju prilikom čega škrob postaje dostupan enzimu koji hidrolizira škrob čime se postupno smanjuje viskoznost smjese odnosno dolazi do likvefakcije (Šantek i sur., 2016.).

Škrob se prije fermentacije mora razgraditi na jednostavne šećere, odnosno glukozu. Smjesa se iz tog razloga kuha uz dodatak enzima koji kataliziraju hidrolizu škroba u prvom koraku na oligomere i dimere koji se u daljnim koracima obrade razlažu do jednostavnih šećera. Kukuruzni škrob sastoji se od glukoznih jedinica koje su međusobno povezane α -1, 4–glikozidnom vezom. Linearno povezane molekule glukoze u škrobu nazivaju se amiloza, dok se razgranate nazivaju amilopektin. Škrob se obično sastoji od 25 – 30 % amiloze, a ostatak je amilopektin (70 – 80 %) kojeg osim molekula glukoze povezanih α -1, 4–glikozidnim vezama, grade i molekule glukoze povezane α -1, 6–glikozidnim vezama. U prvom koraku razgradnje, želatiniziranom škrobu dodaje se termostabilna α -amilaza koja hidrolizira škrob (hidrolizira α -1, 4 vezu) do topivih dekstrina (Sapna i sur., 2011.).

U procesu primarnog ukapljivanja, smjesa se pumpa kroz "jet cooker" pod visokim tlakom na temperaturi od 105 °C i drži tako 5 minuta. Smjesa se zatim hladi atmosferskim ili vakuumskim kondenzatorom. Nakon kondenzacijskog hlađenja, slijedi sekundarno ukapljivanje. Smjesa se drži 1 – 2 sata na 82 – 88 °C kako bi enzim α -amilaza imao vremena razgraditi škrob na dekstrine, polimere glukoze koji sadrže desetak molekula glukoze u lancu. Smjesa se zagrijava tijekom 30 – 45 minuta. Ova se dekstrinizirana smjesa dalje kuha uz podešavanje pH na 4,5 kako bi se olakšala aktivnost glukoamilaze za pretvorbu dekstrina u glukozu (Sapna i sur., 2011.).

Kao što je prije navedeno, kraj pripreme supstrata za fermentaciju uključuje enzim glukoamilazu koja katalizira razgradnju dekstrina do jednostavnih šećera pri temperaturi od 65 °C u procesu saharifikacije.

2.2.3. Fermentacija

Nakon saharifikacije, slijedi proces hlađenja. Fermentacija traje 48 – 72 sata uz dodatak mikroorganizama koji fermentiraju šećere u etanol i ugljični dioksid. Za fermentaciju, od radnih mikroorganizama najčešće se koriste kvasci. Produkt ovog procesa je smjesa koja sadrži oko 10 % etanola, uz krute tvari zrna i kvašćevu biomasu (Sapna i sur., 2011.).

Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* je često korištena vrsta u procesu fermentacije. Učestalost njegovog korištenja može se pripisati visokim prinosima etanola (0,45 – 0,50 g etanola po gramu glukoze) i visokoj produktivnosti ($2 - 5 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) te dodatno, kvasac ima sposobnost rasta pri visokim koncentracijama šećera i etanola (Šantek i sur., 2016.). Biomasa kvasca nakon izdvajanja centrifugiranjem i dezinfekcijom, dodatkom sumporne kiseline, može se upotrijebiti u idućoj fermentaciji (Šantek i sur., 2016.).

Dodatno se u proces fermentacije dodaju enzimi proteaze koji razgrađuju protein kukuruza do slobodnih aminokiselina koje služe kao dodatni izvor dušika za kvasac. Cijeli postupak fermentacije traje 48 – 72 sata i može sintetizirati do 10 – 12 % etanola pri čemu nastaje i CO₂. Osim toga, nastaju i glicerol, organske kiseline i viši alkoholi, koji su nusproizvodi metabolizma (Sapna i sur., 2011.).

Mogu se koristiti sustavi šaržne i kontinuirane fermentacije, iako je šaržni postupak popularniji zbog svoje jednostavnije izvedbe. U kontinuiranim postupku proizvodnje etanola često se upotrebljava više bioreaktora povezanih u seriju (kaskadnih) (Šantek i sur., 2016.). U procesu fermentacije oslobođeni CO₂ može se sakupiti i prodavati u obliku suhog leda i nekim industrijama pića (Sapna i sur., 2011.).

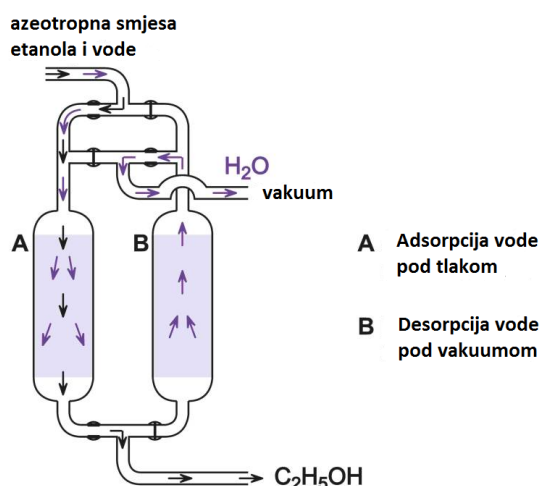
Jedna od specifičnih prilagodbi procesa proizvodnje bioetanola je i istovremena priprema ošećerene podloge i fermentacija (engl. *simultaneous saccharification and fermentation, SSF*) koja daje bolje iskorištenje škroba iz kukuruza jer je izbjegnuta inhibicija supstratom. Nastale glukoza i maltoza se odmah troše za rast stanica kvasca. Isto tako su smanjene i mogućnosti kontaminacije, smanjenje osmotskog tlaka podloge te je bolja energetska učinkovitost procesa (Šantek i sur., 2016.). Dodatno u drugom tipu prilagodbe procesa proizvodnje etanola vrši se istovremeno umnažanje stanica kvasca, priprema ošećerene podloge i fermentacija (engl. *simultaneous saccharification, yeast propagation and fermentation, SSYPF*) što za rezultat daje smanjenje troškova proizvodnje i bolji prinos etanola (Viktor i sur., 2013.).

2.2.4. Izdvajanje i pročišćavanje bioetanola

Smjesa etanola s vodom čini azeotropnu smjesu ($w = 95.6\%$) pri temperaturi od $78,15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Samim time, nije moguće izdvajanje čistog etanola jednostavnom destilacijom. Zbog toga se uz jednostavnu destilaciju etanola iz fermentirane podloge provodi i dehidracija etanola primjenom azeotropne destilacije, ekstraktivna destilacija, ekstrakcija tekuće-tekuće i adsorpcija (Šantek i sur., 2016.).

Destilacija je separacijski postupak kojim se isparavanjem, a zatim ukapljivanjem pročišćavaju kapljevine ili razdvajaju sastojci smjese na temelju njihovih različitih vrelišta (Hrvatska enciklopedija, 2021.). U procesu proizvodnje etanola najviše energije troši se u tehnološkim procesima izdvajanja i pročišćavanja etanola iz prevrele smjese. Koncentracija etanola u prevreloj smjesi iznosi $5 - 12\%$ (φ) (Šantek i sur., 2016.). Za razdvajanje azeotropne smjese etanola i vode u destilacijskim kolonama koristi se razlika u vrelištima etanola ($78\text{ }^{\circ}\text{C}$) i vode ($100\text{ }^{\circ}\text{C}$). U trenutku kada proizvod napušta destilacijske kolone, on sadrži oko 95% etanola (v/v engl. *190-proof*).

Za dehidraciju etanola i dobivanje bezvodnog etanola u industriji se najčešće koriste molekularna sita, odnosno sintetski zeoliti u kojima su šupljine i kanali većinom pravilno isprepleteni u obliku trodimenzijskih sita, s otvorima koji približno odgovaraju veličini molekula (Hrvatska enciklopedija, 2021.). Devedeset i pet postotni etanol se propušta kroz molekularno sito, pri čemu se molekule vode, ulaskom unutar pora molekularnog sita, adsorbiraju (slika 2.2.). Tako se preostala voda fizički odvaja od etanola na temelju različitih veličina molekula. Ovaj korak daje 100% čisti (v/v engl. *200-proof*) bezvodni etanol (Sapna i sur., 2011.).



Slika 2.2. Shematski prikaz rada molekularnog sita
Izvor: Šantek i sur. (2016.)

Osim destilacije, koriste se i drugi postupci izdvajanja bioetanola. Stripiranje i prevaporacija su dva najčešća „in situ“ postupka.

Uvođenje plinova (CO_2 , N_2) u kominu pri velikim protocima predstavlja proces stripiranja. Plin se nakon ekvibracije hlapivih molekula bioetanola s molekulama tog plina, odvodi iz bioreaktora. Ovaj postupak je pogodniji za kontinuirane procese, jer ne utječe na fermentacijski mikroorganizam jer se biomasa ne mora odvojiti prije samog postupka. Međutim, nedostatak ovog procesa vidljiv je u pogledu visokih troškova kondenziranja izdvojenog etanola te troškova opreme (Balan, 2014.).

Membranska tehnika prevaporacije provodi se na mnogo višim temperaturama od onih koje mikroorganizmi mogu podnijeti, pa je proces filtracije kritičan korak. Filtracija komine provodi se za uklanjanje mikrobnih stanica. S jedne strane, komina je u kontaktu s membranom, dok s druge strane nameće vakuum ili dovodi plin. Molekule bioetanola iz komine isparavaju kroz membranu i prevaporirana komina se vraća u fermentor. U usporedbi s destilacijom, prevaporacija je skuplja što je najveći nedostatak ovog procesa (Balan, 2014.).

Nakon izdvajanja etanola navedenim postupcima, ostatak krutine se suši kako bi se dobio suhi trop s otopinom (DDGS) (Sapna i sur., 2011.).

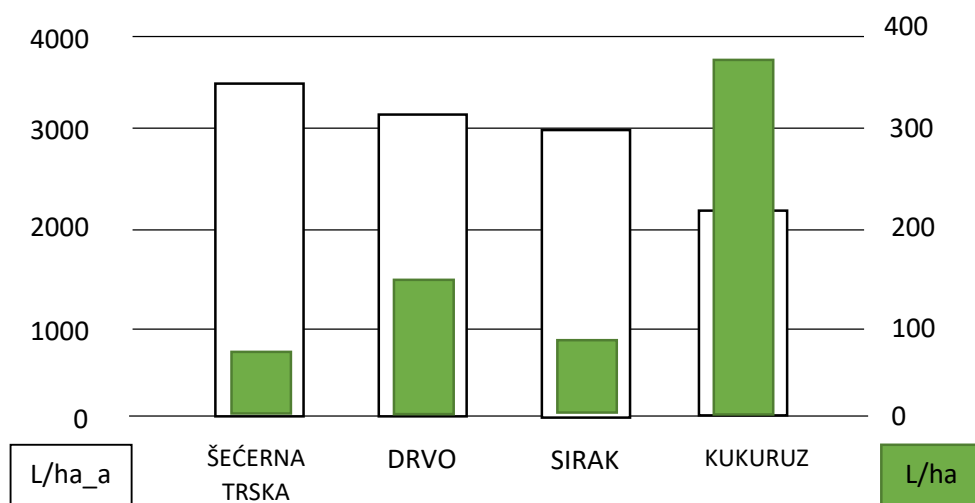
2.2.5. Skladištenje etanola

Prije skladištenja etanola, u spremnike se dodaje mala količina (5 %) benzina. Spremnici većine etanolskih postrojenja veličinom omogućuju skladištenje 7 – 10 dnevnih proizvodnih kapaciteta (Sapna i sur., 2011.).

3. Sirovine za proizvodnju bioetanola s naglaskom na kukuruz

Uz sve veću nestabilnost cijena nafte, mnoge su zemlje odlučile usmjeriti svoju energetska politiku prema korištenju biogoriva. To nameće proizvodnju kukuruza, šećerne repe i drugih kultura koje mogu zadovoljiti potražnju za bioetanolom, ali bez sukoba s proizvodnjom hrane (slika 3.1.). Žitarice su najzastupljenije kulture koje se trenutno koriste za proizvodnju prve generacije etanola. Infrastruktura za uzgoj, berbu i preradu kukuruza dobro je uspostavljena, a pretvorba kukuruznog škroba i kukuruznih sirupa u etanol relativno je jednostavan proces (Bertrand i sur., 2016.).

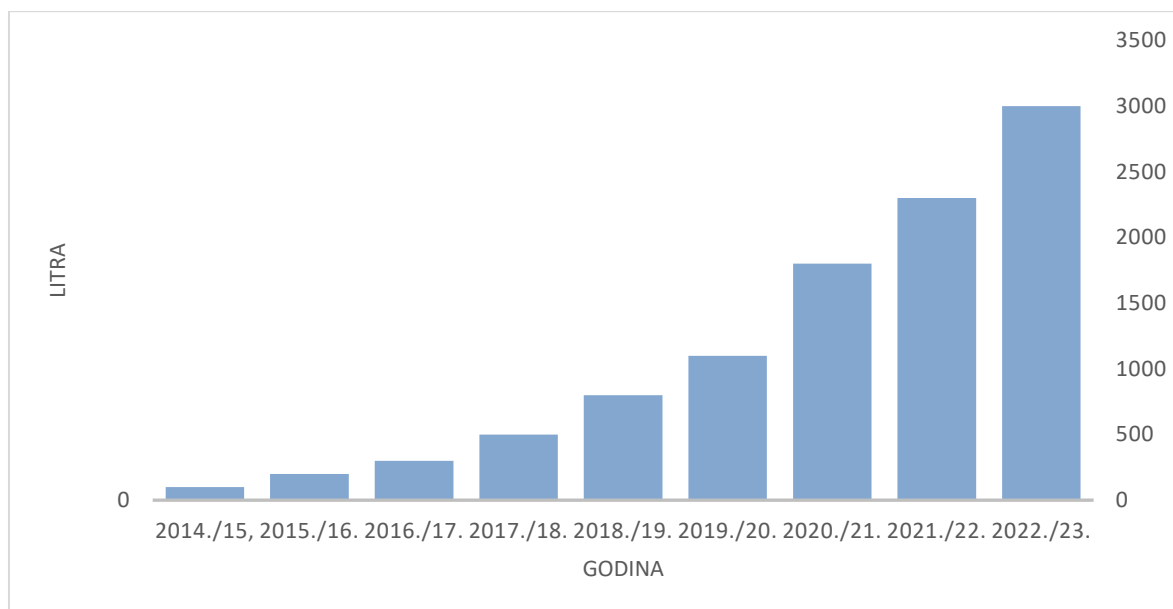
Prema Bertrand i sur. (2016.), zrna kukuruza sadrže otprilike 65 – 76 % škroba, dok pšenica (66 – 82 %), ječam (55 – 74%), sirak (68 – 80 %), zob (45 – 69 %) i riža (74 – 85 %). Ove žitarice također su bogati izvori sirovina prve generacije. Šećerna trska je, nakon kukuruza, druga najčešće korištena sirovina za proizvodnju bioetanola. Za razliku od žitarica, iz kojih se proizvodi škrob kao izvor fermentirajućih šećera, iz šećerne trske proizvodi se izravno šećer pa ne zahtijeva početni korak zagrijavanja prije fermentacije. Kao i kod kukuruza, infrastruktura za proizvodnju, berbu i preradu šećerne trske dobro je uspostavljena.



Slika 3.1. Moguća godišnja proizvodnja bioetanola prema vrsti sirovine (L/ha)

Izvor: izrada autora prema Ivanović i sur. (2016.)

Više od trećine usjeva kukuruza u Americi koristi se za hranidbu životinja, 13 % se izvozi, a 40 % koristi za proizvodnju etanola. Ostatak se koristi na proizvodnju hrane i pića (Bertrand i sur., 2016.). Potrošnja kukuruza kao sirovine za proizvodnju bioetanola u stalnom je porastu, samim time raste količina nusproizvoda (grafikon 3.1.).



Grafikon 3.1. Prikaz korištenja kukuruza kao sirovine u proizvodnji bioetanola – primjer Brazil

Izvor: izrada autora prema Datagro <https://www.bloomberquint.com/business/land-where-sugar-ethanol-is-king-pushes-into-corn-based-biofuel>)

4. Suhi trop s otopinom (DDGS)

Destilirani (suhi) trop je nusproizvod koji, uz CO₂ (ugljični dioksid), nastaje tijekom procesa proizvodnje etanola (Sapna i sur., 2011.).

Za dobivanje DDGS-a, neophodna je sušionica, čija je svrha uklanjanje vode iz cijelog ostatka na učinkovit i mehanički pouzdan način. Ovim postupkom dobivaju se brojni koncentrirani proizvodi: vlažni trop – samo se dio vode uklanja centrifugiranjem (engl. *wet distillers grains, WDG*), suhi trop (engl. *dried distillers grains, DDG*), suhi trop s otopinom (DDGS), tanka otopina (engl. *thin stillage*) ili sirup (koncentrirani *thin stillage*) (Monceaux i Kuehner, 2009.).

4.1. Izdvajanje DDGS-a

Vlažni trop, (engl. *distiller's grain with solubles, DGS*) predstavlja vlažni nusproizvod, iz kojeg se sušenjem dobiva suhi nusproizvod poznat kao DDGS. Stoga je postupak sušenja vrlo važan za proces dobivanja i kvalitetu suhog tropa. Dva osnovna postupka (odvajanje krutina i dehidracija) i tri pojedinačna postupka (centrifugiranje, isparavanje i sušenje) čine sušionicu u modernom, velikom postrojenju za etanol. Korištenje ostalih jedinica je ograničeno. Cilj je koncentrirati čvrstu frakciju cijele sirovine koristeći kombinaciju mehaničkog odvajanja i termičkih procesa. Dostupna je široka paleta tehnologija. Odabrana tehnologija mora pružiti mehaničku pouzdanost i toplinsku učinkovitost uz umjereno kapitalno ulaganje. Dobiveni proizvod je 90 % suhe tvari DDGS-a, dobiven održavanjem svojstava izvorne, približno 15 % suhe tvari, cjelovite sirovine. Tablica 4.1. daje informacije o sastavu kukuruznog suhog tropa (DDGS-a), uz pretpostavku da je DDGS konačni proizvod postupkom suhe meljave (Monceaux i Kuehner, 2009.).

Tablica 4.1. Nutritivni sastav suhog kukuruznog tropa s otopinom

| TIPIČNA ANALIZA KUKURUZNOG DDGS-a | | | |
|---|---------|---------------------|------------------------------|
| Suha tvar (ST) | 89.18 % | Klorid (Cl) | 0.19 % |
| Sirovi protein (SP) | 30.03 % | Cink (Zn) | 61.63 · 10 ⁻⁶ ppm |
| Sirova mast | 10.86 % | Mangan (Mn) | 18.40 · 10 ⁻⁶ ppm |
| Sirova hidrolizirana mast (masne kiseline) | 11.06 % | Bakar (Cu) | 6.29 · 10 ⁻⁶ ppm |
| Sirova vlakna | 7.22 % | Željezo (Fe) | 126.00 ppm |
| Sirovi pepeo | 5.97 % | Arginin | 1.32 % |
| Ekstrakt bez dušika | 44.73 % | Histidin | 0.82 % |
| Ugljikohidrati | 51.96 % | Izoleucin | 1.17 % |
| Kisela deterdžent vlakna | 13.72 % | Leucin | 3.55 % |
| Ukupne probavljive hranjive tvari | 86.49 % | Lizin | 0.91 % |
| Kalcij (Ca) | 0.07 % | Metionin | 0.64 % |
| Fosfor (P) | 0.74 % | Cistin | 0.66 % |
| Kalij (K) | 1.01 % | Fenilalanin | 1.51 % |
| Magnezij (Mg) | 0.3 % | Treonin | 1.11 % |
| Sumpor (S) | 0.67 % | Triptofan | 0.24 % |
| Natrij (Na) | 0.18 % | Valin | 1.57 % |

Izvor: izrada autora prema Monceaux i Kuehner (2009.)

4.2. DDGS - bogat izvor proteina

Tijekom postupka proizvodnje etanola, fermentacijom škroba, dolazi do povećanja sadržaja nefermentiranih hranjivih sastojaka (Liu, 2011.). Ovaj nusproizvod iz proizvodnje etanola bogat je hranjivim tvarima: proteinima, vlaknima i lipidima (tablica 4.1. i tablica 4.2.). Važan dio hranjivosti proizlazi iz visokog sadržaja kvaščeve biomase u DDGS-u. Najvažnija hranidbena karakteristika DDGS-a je njegov visoki sadržaj sirovih proteina (SP). Sadržaj SP u suhom kukuruznom tropu (engl. *corn DDGS*) je približno 300 g/kg ST (Liu, 2011.), a u suhom pšeničnom tropu (engl. *wheat DDGS*) do 390 g/kg ST (Nuez Ortín i Yu, 2009.; Cozannet i sur., 2010a.). Zbog svoje visoke hranjivosti DDGS se često koristi kao alternativno krmivo (slika 4.2.) u hranidbi monogastričnih i poligastričnih životinja (Böttger i Südekum, 2018.).

Sadržaj sirovog proteina u suhom tropu je definiran tipom supstrata za fermentaciju. Tako kukuruzni suhi trop ima niži sadržaj SP od pšeničnog suhog tropa (300 g/kg ST naspram 390 g/kg ST; Nuez Ortín i Yu, 2009.; De Boever i sur., 2014.; Böttger i Südekum, 2017a.). Istraživanja su pokazala da, unutar proizvodnog pogona, promjena udjela žitarica u sirovoj smjesi može utjecati na SP u suhom tropu (Böttger i Südekum, 2017b.). Međutim, gledajući ne samo sadržaj sirovog proteina, već i njegovu razgradivost i probavljivost, korelacije udjela sirovina s karakteristikama proteinske vrijednosti za preživače bile su ograničene (Böttger i Südekum, 2017b.).

Kvaliteta proteina suhog tropa ne može se jednostavno pripisati vrsti ili uvjetima uzgoja sirovine te ti parametri ne mogu objasniti visoku varijabilnost razgradivosti SP kod preživača (Westreicher Kristen i sur., 2012.; De Boever i sur., 2014.; Böttger i Südekum, 2017a.), probavljivost lizina u crijevima iz ruminalno neprobavljivog proteina krmiva (engl. *ruminally undegraded feed, RUP*; Boucher i sur., 2009a.) ili probavljivost aminokiselina kod svinja (Stein i sur., 2009.; Tanghe i sur., 2015.). Ova otkrića upućuju na veliki značaj prerade i potrebu za dobivanjem informacija o istoj.

Probavljivost sirovog proteina povezana je s utjecajem visoke temperature tijekom postupka sušenja, što se još uvijek smatra ključnim u pogledu proteinske vrijednosti suhog tropa za svinje i preživače (Kleinschmit i sur., 2007.; Almeida i sur., 2013.). Ipak, postupak proizvodnje etanola, osim sušenja, uključuje meljavu, "cooking", fermentaciju, destilaciju, centrifugiranje, isparavanje, miješanje; svi će ovi postupci teoretski imati utjecaj na hranjivu vrijednost DDGS-a (Rosentrater i sur., 2012.).

Tablica 4.2. Nutritivni sastav nove generacije DDGS-a

| | |
|------------------------------------|----------------------|
| SASTAV HRANJIVIH SASTOJAKA | |
| Suha tvar | 89 % |
| Sirovi protein | 27,2 % |
| Sirova mast | 9,5 % |
| Kisela deterdžent vlakna | 14 % |
| Neutralna deterdžent vlakna | 38,8 % |
| Probavljiva energija (DE) | 14,77 MJ/kg (svinje) |
| Metabolička energija (ME) | 13,38 MJ/kg (svinje) |
| Arginin | 1,06 % |
| Histidin | 0,68 % |
| Izoleucin | 1,01 % |
| Leucin | 3,18 % |
| Lizin | 0,74 % |
| Metionin | 0,49 % |
| Cistin | 0,52 % |
| Fenilalanin | 1,32 % |
| Treonin | 1,01 % |
| Triptofan | 0,21 % |
| Valin | 1,34 % |
| Kalcij (Ca) | 0,05 % |
| Fosfor (P) | 0,79 % |
| Dostupni fosfor (P) | 0,71 % |

Izvor: izrada autora prema Shurson i sur. (2003.)

4.3. Upotreba DDGS-a u hranidbi životinja: prednosti i ograničenja

Suhi kukuruzni trop s otopinom (otprilike 10 % vlage) nusproizvod je u postupku proizvodnje etanola. Oko 8,16 kg DDGS-a proizvede se za svaki bušel (25,4 kg) kukuruza u postrojenjima za suhu meljavu etanola. Osim primarne usredotočenosti na proizvodnju etanola, čime se postiže oko 10,2 l iz jednog bušela kukuruza (Davis, 2001.), CO₂ i destilirani trop (mokar ili suh) pripadaju drugim najvažnijim izvorima prihoda većine etanolskih postrojenja.

Povećanje hranjive vrijednosti i ujednačenosti DDGS-a može se pokazati korisnim za etanolsko postrojenje, posebno tijekom razdoblja niskih cijena etanola i/ili visokih troškova ulaznih sirovina, uključujući kukuruz ili druge izvore fermentirajućih supstrata i energije kao što su prirodni plin ili lož ulje. Očito je da kontinuirano usmjeravanje na proizvodnju ujednačenijeg i kvalitetnijeg DDGS-a može rezultirati boljom marketinškom prilikom za postrojenja za proizvodnju etanola i posljedično povećanje prihoda postrojenja za proizvodnju etanola.

Tijekom posljednjih 4 do 5 godina uporaba DDGS-a u hrani monogastričnih životinja (svinja i peradi) povećala se za oko 2,5 puta. To je uglavnom posljedica većeg broja dostupnih istraživanja usredotočenih na uporabu većih količina DDGS-a u hrani za životinje (Noll i sur., 2007.; Xu i sur., 2010.). Uz to, raste odgovornost i shvaćanje da je za životinje optimalno korištenje DDGS-a s boljim karakteristikama (tj. većom probavljivošću hranjivih sastojaka i većom ujednačenošću). To pridonosi boljim i ujednačenijim performansama životinja čak i kada su u hranu za životinje uključene relativno visoke razine DDGS-a. To također poboljšava animalnu proizvodnju jer s boljom kvalitetom DDGS-a rastu i granice za korištenje ovog tipa alternativnog krmiva u hrani za životinje, čime se smanjuju ostali ulazni troškovi hrane za životinje. Tako u hrani za perad udio DDGS-a može biti 15 % ili više. Kod preživača DDGS se koristi već duže vrijeme jer se preživači mogu bolje nositi s visokim udjelom vlakana koji je prisutan u suhom tropu (Liu i Rosentrater, 2016.).

4.4. Utjecaji procesa proizvodnje etanola na kvalitetu proteina DDGS-a

Sadržaj sirovih proteina (SP), razgradivost i probavljivost sirovog proteina i aminokiselina unaprijed su određeni tipom sirovine, ali na njih značajno utječu i procesi proizvodnje. Istaknuti su određeni koraci proizvodnog procesa koji mogu utjecati na vrijednost proteina DDGS-a. Utjecaj visokih temperatura tijekom sušenja DDGS-a je vrlo važan. Osim sušenja, daljnji koraci obrade koji potencijalno utječu na vrijednost proteina suhog tropa (DDGS-a) su primjena visoke temperature prije sušenja (u procesima pripreme sirovine i fermentacije) ili miješanja tokova proizvoda. Protein kvasca doprinosi proteinu DDGS-a, ali procjene stvarne količine znatno se razlikuju. Iako su navedeni učinci i temeljni principi poznati, njihovo sustavno istraživanje otežava složena priroda proizvodnog procesa (Böttger i Südekum, 2018.).

4.4.1. Temperatura

Kada je riječ o suhom tropu, visoka temperatura uglavnom uzrokuje oštećenja i rezultira brojnim negativnim učincima na kakvoću proteina. Može doći do smanjenja probavljivosti aminokiselina ili njihovog potpunog razaranja (Mauron, 1990.). Nadalje, zagrijavanjem se utječe i na stanične stijenke biljaka, dolazi do vezivanja dušičnih spojeva na vlakna (engl. *acid detergent insoluble N, ADIN*) u suhom tropu što dovodi do smanjene probavljivosti proteina (Van Soest i Mason, 1991.; Kleinschmit i sur., 2007.; Böttger i Südekum, 2017a.). Lizin je posebno osjetljiv na oštećenja visokim temperaturama (Mauron, 1990.).

Za monogastrične životinje opskrba aminokiselinama iz hrane vrlo je važna, dok kod preživača postoji određena opskrba aminokiselinama pomoću mikroba buraga, takozvanog mikrobnog proteina (Böttger i Südekum, 2018.).

U hranidbi preživača, sušenje može biti donekle korisno jer smanjuje dostupnosti proteina mikrobima buraga čime se povećava količina proteina za razgradnju i apsorpciju u tankom crijevu, takozvani RUP (vidi poglavlje 4.2.). Ipak, dođe li do pregrijavanja, dostupnost RUP-a i ukupnih proteina se smanjuje. Međutim, učinak sušenja može biti složen, jer se razlikuju ne samo temperatura, već i tehnologija sušenja te trajanje izloženosti visokim temperaturama (Monceaux i Kuehner, 2009.).

Utjecaj visoke temperature tijekom sušenja vidljiv je na temelju boje suhog tropa. U SAD-u se smatra da suhi kukuruzni trop ima vrhunsku hranjivu vrijednost kada je svijetao i zlatne boje (Shurson i sur., 2012.). Eksperimentalni podaci odnosa kvalitete i boje dobivaju se mjerenjem varijabli koje se odnose na boju krmiva, kao što su svjetlost, crvenilo, žutost. Navedene su varijable povezane s probavljivošću aminokiselina, stopom rasta i omjerom prirasta i konzumacije hrane kod pilića (Cromwell i sur., 1993.; Fastinger i sur., 2006.) i probavljivosti lizina kod svinja (Cozannet i sur., 2010b.).

Tijekom istraživanja Liu (2008.) za mjerenje površinskih boja cijelih i usitnjenih frakcija DDGS-a i uzoraka mljevenog kukuruza korišten je Minolta kolorimetar (model CR-300). Boje su izražene u (L), (a), (b) rasponu boja, također poznatom kao CIELAB, u kojem (L) označava svjetlinu, a (a) i (b) su koordinate kromatičnosti. Smjer (a) označava zeleno-crveno usmjerenje u kojem su pozitivne vrijednosti usmjerene prema crvenom, a negativne prema zelenom, dok (b) predstavlja žuto-plavi smjer, u kojem pozitivne vrijednosti idu prema žutom, a negativne prema plavom. DDGS iz različitih biljaka jako se razlikovao u boji, pri čemu je (L) varirao od 44,9 do 59,6, vrijednost (a) od 8,3 do 13,2, a vrijednost (b) od 31,0 do 46,3. Ove vrijednosti raspona ukazuju na to da su neki DDGS-i bili tamniji, žući ili crveniji od drugih. Među DDGS uzorcima došlo je i do zamjetnih promjena u boji površine ovisno o veličini. Većina uzoraka pokazala je blagi pad vrijednosti (L) i (b) i povećanje vrijednosti (a) s povećanjem veličine čestica. Drugim riječima, za uzorke DDGS-a, frakcije manje veličine čestica bile su relativno svjetlije i manje crvene, ali žuće. Najveća varijacija u boji, osobito u vrijednosti (b), među DDGS uzorcima pronađena je u frakcijama manjih veličina čestica.

4.4.2. ADIN – dušik netopiv u kiselom deterdžentu

Koncentracija ADIN-a (engl. *acid detergent insoluble nitrogen*) u suhom tropu može biti povezana s proteinskom vrijednošću kod monogastričnih životinja. Istraživanja pokazuju povezanost između koncentracije ADIN-a i prirasta i omjera prirasta i konzumacije hrane kod pilića (Cromwell i sur., 1993.), kao i koncentracije u crijevima probavljivih esencijalnih aminokiselina kod svinja (engl. *standardized ileal digestible essential amino acid*) (Almeida i sur., 2013.). U hranidbi preživača, međutim, raspravlja se o značenju ADIN-a za određivanje karakteristika sirovog proteina i potencijalnih oštećenja uzrokovanih visokim temperaturama. Tako se dušik netopiv u kiselom deterdžentu (ADIN) može koristiti za određivanje opsega proteinskog oštećenja u DDGS-u. Jednom kada se vrijednost ADIN-a utvrdi u laboratoriju, ta se vrijednost pomnoži s faktorom 6,25 da bi se izračunala odgovarajuća vrijednost proteina za DDGS. Ova izračunata vrijednost proteina predstavlja količinu sirovih proteina u DDGS-u koja nije dostupna i može se usporediti sa stvarnom vrijednošću sirovih proteina kako bi se utvrdio opseg oštećenja proteina.

Prema Boila i Ingalls (1994b.), utvrđen je negativan učinak ADIN-a na razgradivost sirovog proteina kod preživača. Upotreba ADIN-a kao pokazatelja oštećenja proteina može dovesti do podcjenjivanja probavljivosti proteina suhog tropa dobivenog iz žitarica (Nakamura i sur., 1994.). Neke studije ukazuju da ADIN može biti djelomično probavljiv u koncentriranim krmivima, tako se 58 % ADIN-a u takvom tipu krmiva smatra probavljivim (Machacek i Kononoff, 2009.) Prema Watersu i sur. (1992.), ADIN se, u nusproizvodima, može smatrati nerazgradivim i neprobavljivim ako potiče od sirovine iz koje je nusproizvod izveden, dok je ADIN stvoren Maillardovom reakcijom djelomično probavljiv. Taj zaključak omogućuje procjenu količine ADIN-a koji je nastao tijekom proizvodnog procesa usporedbom ADIN-a u suhom tropu sa sadržajem ADIN-a u odgovarajućim sirovinama (Böttger i Südekum, 2018.).

4.4.3. Aminokiseline

Toplinska obrada suhog tropa može postati uočljiva kroz smanjenu koncentraciju ukupnog lizina (Almeida i sur., 2013.). Prema Kim i sur. (2012.), vidljiva su poboljšanja i napreci u metodama obrade etanola u industriji, čime se smanjuju oštećenja od visokih temperatura. Rezultatom tih pomaka smatra se povećanje sadržaja lizina u suhom tropu u odnosu na prethodne godine. Pokazalo se da je omjer ukupnog lizina i sirovog proteina povezan s koncentracijama standardiziranih ilealnih probavljivih esencijalnih aminokiselina (Almeida i sur., 2013.), a neki istraživači smatraju da je za klasifikaciju suhog tropa po grupama dovoljan omjer ukupnog lizina i sirovog proteina (Fontaine i sur., 2007.).

4.4.4. Postupak meljave

Meljava žitarica je prvi korak u procesu proizvodnje etanola, koji se provodi s ciljem povećanja dostupnosti škroba. Međutim, meljava unaprijed određuje konačnu veličina čestica suhog tropa. Veličina čestica može znatno varirati, ovisno o izvorima DDGS-a (Liu, 2008.). Općenito je poznato da manje veličine čestica povećavaju probavljivost hranjivih sastojaka. To se pokazalo za sirovi protein i aminokiseline DDGS-a kojim su hranjene svinje (Yáñez i sur., 2011.).

4.4.5. Dodatak kemikalija

Tijekom procesa proizvodnje etanola potrebno je dodavati različite enzime i kemikalije u fermentiranu smjesu. Da bi se potaknuo rast kvasca, primjenjuje se i dodatak izvora N, uree ili amonijaka (Bothast i Schlicher, 2005.). Dodatno, N iz žitarica može se napraviti dostupniji upotrebom proteolitičkih enzima (proteinaza) čime se povećava opskrba niskomolekularnim dušičnim spojevima za kvasac (Bothast i Schlicher, 2005.; Johnston i McAloon, 2014.). Međutim, ti enzimi su izravno usmjereni na razgradnju proteina iz zrna i tako mogu utjecati na vrijednost proteina DDGS-a (Böttger i Südekum, 2018.).

4.4.6. Kvasac

Faktori koji utječu na karakteristike sirovog proteina kod suhog tropa, koji nisu izravno povezani sa sirovinama ili tehnološkim detaljima obrade, vezani su uz rast stanica kvasca. Smatra se da biomasa kvasca nudi objašnjenje za promjene u profilu aminokiselina tijekom postupka proizvodnje etanola (Belyea i sur., 2010.; Han i Liu, 2010.). Na primjer, kvasac može povećati hranidbenu vrijednost DDGS-a kroz relativno povećanje sadržaja lizina u usporedbi sa zrnjem žitarica (Yamada i Sgarbieri, 2005.; Belyea i sur., 2010.).

4.5. Spajanje tokova proizvodnje

Prije ili tijekom sušenja miješaju se vlažni trop (engl. *wet distillers solubles, WDG*) i kondenzirane topljive tvari (engl. *condensed distillers solubles, CDS*), a njihovi udjeli variraju (Belyea i sur., 2010.). Zajedno s različitim sastavom dviju struja, ovo može objasniti neke od varijabilnosti u karakteristikama sirovih proteina kod suhog tropa. Prema Kingsly i sur. (2010.), omjer CDS-a dodanog natrag u WDG ima glavni utjecaj na sastav DDGS-a. Razgradivost sirovog proteina u DDGS-u može se povećati dodavanjem kondenzirane topljive tvari za destilaciju zbog većih količina brzo razgradivih sirovih proteina (Cao i sur., 2009.). S druge strane, Pahm i sur. (2008.) otkrili su da tijekom sušenja i povećane temperature veće količine CDS-a smanjuju reaktivni lizin. Ovaj zaključak može se pripisati većem sadržaju lizina u destilacijskom tropu i većem sadržaju šećera u kondenziranoj topljivoj tvari za destilaciju (Pahm i sur., 2008.; Cozannet i sur., 2010b.).

Spajanje vlažnog destilacijskog tropa i kondenzirane topljive tvari za destilaciju također je primjer moguće interakcije između tehnologije i sirovina. Povećano dodavanje CDS-a dovodi do većeg sadržaja sirovog proteina u pšeničnom DDGS-u, ali smanjuje sirovi protein u kukuruznom DDGS-u (Cao i sur., 2009.; Kingsly i sur., 2010.; Mosqueda i sur., 2013.). Općenito, regulacija tokova proizvoda unutar proizvodnog pogona može značiti da neki od proteina mogu biti podvrgnuti koracima obrade više puta: na primjer, za uštedu tehnološke vode obično se primjenjuje djelomično recikliranje ostataka (Rosentrater i sur., 2012.), a dio već osušenog materijala može se reciklirati u sušilici (Kingsly i sur., 2010.).

4.6. Varijabilnost i dostupnost hranjivih tvari DDGS-a

Rezultati istraživanja prema Nuez Ortín i Yu. (2009.), pokazali su da se kemijski profili pšeničnog DDGS-a, kukuruznog DDGS-a i mješavine DDGS-a (pšenica : kukuruz = 70 : 30) znatno razlikuju. Mineralni sastav pšeničnog DDGS-a imao je niži sadržaj S (3,9 naspram 7,2 g/kg ST), veći sadržaj Ca (1,8 naspram 0,5 g/kg ST) i P (9,1 naspram 7,7 g/kg ST) od kukuruznog DDGS-a, ali slično DDGS-u mješavine. Pšenični DDGS imao je najniže, dok je kukuruzni DDGS imao najveće energetske vrijednosti, a energetska vrijednost mješavine DDGS-a bila je između. DDGS pšenice bio je niži u brzo razgradivoj frakciji sirovih proteina (277 naspram 542 g/kg SP), a viši u nerazgradivoj frakciji (163 naspram 114 g/kg SP) i sporo razgradivoj frakciji sirovih proteina (512 naspram 279 g/kg SP) od kukuruznog DDGS-a, ali slično mješavini DDGS -a. Za podfrakcije ugljikohidrata, pšenični DDGS bio je veći u nestrukturnoj frakciji ugljikohidrata (483 naspram 184 g/kg), veći u brzo razgradivoj frakciji slobodnih šećera (359 naspram 91 g/kg), veći u nedostupnom ugljikohidratu (204 naspram 142 g/kg), sličan u brzo razgradivoj frakciji ugljikohidrata (prosječno 108 g/kg), niži u srednje razgradivom ugljikohidratu (313 naspram 674 g/kg) nego kukuruzni DDGS. DDGS pšenice imao je višu in situ razgradivost sirovih proteina i nižu razgradivost NDF-a od DDGS-a kukuruza, ali sličnu razgradivost mješavini DDGS-a.

5. Upotreba DDGS-a u hranidbi životinja

Približno 40 % DGS-a (engl. *distiller's grain with solubles*) plasira se na tržište kao vlažni nusproizvod za upotrebu u mljekarstvu i tovu goveda. Preostalih 60 % suši se i u obliku DDGS-a stavlja na domaće i međunarodno tržište za upotrebu u hranidbi mliječnih krava i junadi, goveda, svinja te peradi. Neki industrijski stručnjaci predviđaju da će proizvodnja DDGS-a doseći 10 do 14 milijuna tona u sljedećih nekoliko godina (Shurson i Noll, 2005.).

Istraživanje Nuez Ortín i Yu. (2009.) pokazuje da su energetske vrijednosti kukuruznog DDGS-a veće nego kod kukuruza, što ukazuje da je kukuruzni DDGS-a superiorniji u odnosu na neprerađeni kukuruz u hranidbi mliječnih krava i goveda. Energetske vrijednosti mješavine DDGS-a bile su veće od vrijednosti pšeničnog DDGS-a i pšenice, slične kao kod kukuruza, ali niže od vrijednosti kukuruznog DDGS-a, što nudi mješavinu DDGS-a kao alternativu kukuruza, veće iskoristivosti od pšenice i pšeničnog DDGS-a u hranidbi mliječnih krava i goveda.

5.1. Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za preživače – mliječne krave i junad

Kukuruzni DDGS vrlo je dobar izvor proteina za mliječne krave. Sadržaj proteina u visokokvalitetnom kukuruznom DDGS-u čini više od 30 % suhe tvari. Nadalje, dobar je izvor RUP-a ili by-pass proteina (tablica 5.1.). Većina lako razgradivih proteina u kukuruza razgrađuje se tijekom procesa fermentacije, što rezultira proporcionalno višom razinom RUP-a od one koja se nalazi u kukuruza. Kvaliteta proteina u kukuruznom DDGS-u prilično je dobra, ali kao i za većinu proizvoda od kukuruza, lizin je prva ograničavajuća aminokiselina. U većini je situacija proizvodnja mlijeka jednako visoka ili viša, u usporedbi s hranidbom mliječnih krava sojinim obrokom kao izvorom proteina (Shurson i Noll, 2005.).

Kukuruzni DDGS tamne boje obično ukazuje na oštećenja proteina visokim temperaturama, što može dovesti do smanjene proizvodnje mlijeka. U studiji Powersa i sur. (1995.), mliječne krave hranjene obrokom koji sadrži DDGS tamne boje imale su manju proizvodnju mlijeka nego krave hranjene obrokom koji je sadržava DDGS zlatne boje. Stoga je važno koristiti visokokvalitetne izvore zlatnog DDGS-a u hranidbi mliječnih krava kako bi se postigla maksimalna proizvodnja mlijeka. Kukuruzni DDGS također je vrlo dobar izvor energije za mliječne krave. Energetske vrijednosti za visokokvalitetni DDGS su 10 – 15 % veće od vrijednosti prethodno prijavljenih za DDGS u NRC (2001.) te takav DDGS sadrži više energije po kilogramu kukuruza (Shurson i Noll, 2005.).

Tablica 5.1. Nutritivni sastav visokokvalitetnog kukuruznog DDGS-a (SAD) kod preživača

| | | | |
|---------------------------------------|------------------------------|---|------|
| HRANJIVA TVAR | KUKURUZNI DDGS (% ST) | Eterski ekstrakt ili sirova mast | 10,7 |
| Sirovi protein (SP) | 30,1 | Pepeo | 5,2 |
| RUP^a % SP | 55,0 | Kalcij (Ca) | 0,22 |
| NET_{održavanje} MJ/kg | 8,67 | Fosfor (P) | 0,83 |
| NET_{porast} MJ/kg | 5,9 | Magnezij (Mg) | 0,33 |
| NET_{laktacija} MJ/kg | 9,46 | Kalij (K) | 1,10 |
| Neutralna deterdžent vlakna | 41,5 | Natrij (Na) | 0,30 |
| Kisela deterdžent vlakna | 16,1 | Sumpor (S) | 0,44 |

Izvor: izrada autora prema Shurson i Noll (2005.)

Kvalitetan DDGS sadrži velike količine NDF (neutralna deterdžent vlakna), ali male količine lignina. To ga čini kvalitetnim izvorom visoko probavljivih vlakana za preživače. Visoko probavljiva vlakna u kukuruznom DDGS-u preduvjet su za korištenje DDGS-a kao djelomičnu zamjenu za krmiva i koncentrate u hranidbi za mliječne krave i mesna goveda. Maksimalna preporučena razina hranidbe kukuruznim DDGS-om za mliječne krave u laktaciji iznosi 20 % ST u obroku. Ova razina odgovara oko 4,5 do 5,5 kg DDGS-a u obroku dnevno, koristeći tipične razine konzumacije mliječnih krava u laktaciji. Istraživačke studije pokazale su da, dokle god hrana za životinje osigurava odgovarajuću količinu vlakana, hranjenje DDGS-om do 20 % ST obroka neće negativno utjecati na koncentraciju mliječne masti (Shurson i Noll, 2005.).

5.2. Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za preživače – goveda

U SAD-u su se goveda za tov hranila obrokom koji sadrži čak 40 % suhe tvari DDGS-a kao zamjena za zrno kukuruza. Kada se kukuruzni DDGS dodaje u obrok na ovoj razini, koristi se prvenstveno kao energetska krmivo, ali i kao proteinsko krmivo za dostatan izvor proteina i fosfora. Prema istraživanju Ham i sur. (1994.), neto energija prirasta (engl. *NE_{gain}*) kukuruznog DDGS-a za govedo bila je 21 % veća od vrijednosti suhog valjanog kukuruza. Hranidbeni stručnjaci smatraju da kukuruzni DDGS ima prividnu energetska vrijednost jednaku zrnu kukuruza u hranidbi goveda na razinama u rasponu od 10 do 20 % ST obroka.

U mnogim studijama hranidba kukuruznim DDGS-om, sa udjelom od 15 do 20 % ST obroka, poboljšala je brzinu rasta i konverziju hrane tovljenih goveda u odnosu na hranidbu kukuruznim zrnom. Ovo poboljšanje performansi često je rezultat smanjene subakutne acidoze i manjih problema s hranidbom u goveda. Škrob u kukuruznom zrnju vjerojatnije će uzrokovati acidozu, laminitis i masnu jetru ako je uključen u hranidbu tovljenih goveda u velikim količinama. Međutim, ovi potencijalni problemi znatno se smanjuju kod hranidbe kukuruznim DDGS-om zbog malog sadržaja zaostalog škroba (<2 %) i velike količine visoko probavljivih vlakana. Kukuruzni DDGS vrlo je ukusan i stoka ga lako konzumira. Nadalje, hranidba DDGS-om ne mijenja kvalitetu ili prinos goveđih trupova i nema utjecaja na senzorne ili prehrambene karakteristike govedine. Dio ugljikohidrata i proteina DDGS-a postaju nedostupni životinjama zbog Maillardove reakcije prouzročene tijekom sušenja. Stoga bi se trebao koristiti svijetli, zlatno obojeni DDGS koji ima slatkast i fermentiran miris kako bi se postigla najbolja hranidbena kvaliteta i njegov povoljan učinak na rast goveda. Kukuruzni DDGS ima malo kalcija, ali puno fosfora i sumpora. Hranidba, u koju je uključen kukuruzni DDGS, može osigurati dovoljne količine fosfora uz uklanjanje svih dodatnih izvora fosfora iz mineralnih dodataka. Omjer kalcija i fosfora u obroku trebao bi biti jednak ili veći od 1,2:1, ali ne veći od 7:1, u svrhu izbjegavanja mokraćnog kamena te osiguravanja odgovarajućih performansi. Dodatni kalcij, radi održavanja preporučenog omjera, osigurava se iz krmiva s visokim udjelom kalcija (npr. vapnenac). Visoke razine sumpora (više od 0,4 % ST) iz hrane i vode mogu uzrokovati polioencefalomalaciju kod goveda i uzrokovati smetnje u apsorpciji bakra. Ovaj antagonizam s bakrom pogoršava se u prisutnosti molibdena (Shurson i Noll, 2005.).

5.3. Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za svinje

Najbrže rastući sektor upotrebe DDGS-a je svinjska industrija u SAD-u. Visokokvalitetni kukuruzni DDGS ima probavljivu i metabolizirajuću energetska vrijednost jednaku kukuruzu. Ipak, kukuruzni DDGS ima nisku razinu lizina u odnosu na ukupne količine SP. Lošija je kvaliteta SP iz DDGS-a za hranidbu svinja. Triptofan je druga limitirajuća aminokiselina nakon lizina i treba ga nadzirati u obroku kada se u hranidbi svinja koristi više od 10 % kukuruznog DDGS-a. Whitney i sur. (2000.) pokazali su da je prividni koeficijent probavljivosti za lizin iznosio 53,6 % za visokokvalitetni kukuruzni DDGS zlatne boje, a koeficijent probavljivosti lizina za kukuruzni DDGS tamne boje 0 %. Ovi rezultati pokazuju da izvori DDGS-a zlatne boje imaju puno veću količinu probavljivog lizina i drugih aminokiselina u usporedbi s izvorima DDGS-a tamnije boje, oštećenima uzrokovanih visokim temperaturama. Kako bi se osigurala izvrsna izvedba svinja pri dodavanju DDGS-a u obrok svinja, trebaju se koristiti samo svijetlo obojeni zlatni DDGS. Također, kukuruzni DDGS izvrstan je izvor dostupnog fosfora za svinje (Shurson i Noll, 2005.). U tablici 5.2. prikazana je maksimalni preporučeni udio visokokvalitetnog kukuruznog DDGS-a u hranidbi svinja.

Tablica 5.2. Maksimalne preporučene vrijednosti uključenosti kukuruznog DDGS-a zlatne boje u hranidbi svinja

| PROIZVODNA FAZA | UDIO |
|--|------|
| ODBIJENA PRASAD (> 7KG) | 25 % |
| SVINJE U TOVU | 20 % |
| GESTACIJA (SUPRASNA KRMAČA) | 50 % |
| LAKTACIJA (KRMAČA U DOJNOM RAZDOBLJU) | 20 % |

Izvor: izrada autora prema Shurson i Noll (2005.)

Wilson i sur. (2003.) proveli su studiju za procjenu preporučenih maksimalnih udjela uključivanja DDGS-a u gestacijsku (50 %) i laktacijsku (20 %) hranidbu za krmače tijekom dva reproduktivna ciklusa. Krmače hranjene DDGS-om brojale su više odbijene prasadi po leglu tijekom drugog reproduktivnog ciklusa u odnosu na krmače hranjene kontrolnom hranom s obrokom sastavljenim od kombinacije kukuruza i soje. Ovo poboljšanje u veličini odbijenog legla slično je kao i veličina legla primijećenih u drugim studijama u kojima su krmače hranjene hranom s puno vlakana. Dodatno, neobjavljeni rezultati istraživanja provedenih na Sveučilištu Minnesota pokazali su da kada se obrok formulira na dostupnoj osnovi fosfora, a doda se visokokvalitetni kukuruzni DDGS, smanjuje se koncentracija fosfora u gnoju. Međutim, probavljivost suhe tvari u obroku koji sadrži DDGS općenito se lagano smanjuje, što rezultira laganim smanjenjem ili bez promjene u ukupnom izlučivanju fosfora iz gnojiva. Pri dodavanju kukuruznog DDGS-a i fitaze, enzim koji katalizira hidrolizu fitinske kiseline, u hranidbu svinja, izlučivanje fosfora iz gnoja dramatično se smanjuje (Shurson i Noll, 2005.).

5.4. Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za perad

Kukuruzni DDGS obogaćuje hranidbu peradi značajnim količinama energije, aminokiselina i fosfora. Vrijednost od 11,52 MJ ME/kg može se koristiti kako bi se izbjeglo precjenjivanje energetske vrijednosti DDGS-a u odnosu na kukuruz, jer se energetska vrijednost razlikuje među izvorima. Međutim, važno je napomenuti da su ove vrijednosti znatno veće od vrijednosti (10,42 MJ ME / kg) zabilježene u NRC-u (1994.). Nadalje, sadržaj aminokiselina i probavljivost zlatnog kukuruznog DDGS-a veći su od vrijednosti zabilježenih u NRC-u (1994.). Na primjer, probavljivost lizina kukuruznog DDGS-a je veća (83 %) u usporedbi s vrijednošću peradi zabilježenom u NRC-u (1994.) koja je 65 % (Shurson i Noll, 2005.). Također, kukuruzni DDGS sadrži puno fosfora (0,65 do 0,78 %). Za razliku od dostupnosti fosfora u kukuruzu, dostupnost fosfora u kukuruznom DDGS-u kreće se od 54 do 68 % za perad. Sadržaj natrija može se kretati od 0,01 do 0,48 %. Kukuruzni DDGS također sadrži čak 40 ppm ksantofila. Sadržaj ksantofila u kukuruznom DDGS-u značajno povećava boju žumanjka kada se koristi u hranidbi kokoši nesilica i pojačava boju kože brojlera, kada mu je udio u obroku 10 %. Preporučene maksimalne razine uključenosti kukuruznog DDGS-a u obroke iznose 10 % za brojlere i 15 % za kokoši nesilice. Pri formuliranju obroka koji sadrži kukuruzni DDGS, potrebno je koristiti probavljive aminokiseline, posebno za Lys, Met, Cys i Thr. Sastav krmiva bi također trebao biti određen uzimajući u obzir minimalne prihvatljive razine za Trp i Arg zbog ograničavajuće prirode ovih aminokiselina u proteinu kukuruznog DDGS-a (Shurson i Noll, 2005.).

5.5. Hranidbena vrijednost kukuruznog DDGS-a za ribe – kalifornijske pastrve

Prema Walkeru i sur. (2014.) riblje brašno (engl. *fish meal, FM*) primarni je izvor proteina koji se koristi u komercijalnoj hranidbi riba poput kalifornijske pastrve i pastrva ga lako probavlja (Gatlin i sur., 2007.). Međutim, potražnja za FM-om posljednjih su se godina povećala zbog širenja i intenziviranja akvakulture u cijelom Svijetu i zbog upotrebe FM-a u hranidbi kopnenih životinja koja također ograničava dostupnost FM-a za hranidbu riba (Naylor i sur., 2009.). Cijena FM-a skoro se utrostručila od 2000. do 2002. godine i predviđa se daljnji rast u budućnosti (Delgado i sur., 2002.), što će povećati troškove hrane za pastrve. Stoga su proizvođači u potrazi za jeftinijim alternativnim izvorima proteina. Većina alternativnih izvora proteina potječe iz biljaka. Sojina sačma (engl. *soybean meal, SBM*) bila je najrašireniji alternativni izvor proteina i uspješno je korištena u hranidbi riba (Gatlin i sur., 2007.; Ayadi i sur., 2011.). Međutim, postoje ograničenja u korištenju SBM-a i drugih izvora biljnih proteina u hrani za ribe. Mnogi izvori proteina biljnog podrijetla sadrže visoku razinu strukturnih vlakana (Naylor i sur., 2009.) što može ograničiti njihovo korištenje. Dodatno, biljni izvori proteina posjeduju većinu poželjnih karakteristika, ali njihova niska i nedosljedna dostupnost ili visoka cijena u odnosu na FM ima ograničenu uporabu u hrani za ribe (Naylor i sur., 2009.).

Sadržaj proteina u DDGS-u dovoljno je visok (tipično 250-450 g/kg, ovisno o izvoru supstrata za proizvodnju etanola) da se praktički može koristiti kao izvor proteina u hranidbi pastrvama; međutim, visok sadržaj vlakana ograničava razinu koja se može uključiti u obrok. Kao dio obroka za ribe, DDGS je niži u sadržaju P u odnosu na životinjske izvore. Fitati uglavnom nisu dostupan izvor P za pastrve (Cheng i Hardy, 2004.) Međutim, u usporedbi s izvornim supstratima (žitaricama) u kojima je otprilike dvije trećine P prisutno kao fitat (NRC, 2011.), samo polovica P u DDGS-u prisutna je kao fitat zbog hidrolize fitata kvascem tijekom fermentacije i drugih koraka prerade (Liu, 2011.; Liu i Han, 2011.). Iz navedenog vidljiv je cilj proizvođača, razviti metode za povećanje nutritivne vrijednosti DDGS-a za upotrebu u hranidbi riba. S brzim povećanjem opskrbe DDGS-om, raste i interes za uporabom DDGS-a u hranidbi kalifornijske pastrve i drugih vrsta riba (Gatlin i sur., 2007.).

6. Zaključak

Proizvodnja biogoriva iz obnovljivih izvora energije postaje prioritet u mnogim zemljama i predstavlja alternativu proizvodnji goriva iz fosilnih izvora. Uz sve veću nestabilnost cijena nafte, mnoge su zemlje odlučile usmjeriti svoju energetska politiku prema korištenju biogoriva. Budući se trenutno u svijetu komercijalno etanol kao gorivo još uvijek proizvodi iz prve generacije sirovina, odnosno zrna kukuruza, kao nusproizvod ostaje trop.

Kao posljedica sve manje dostupnosti žitarica u hrani za životinje, nusproizvod u postupku proizvodnje etanola, DDGS, postao je važan izvor energije, proteina i vlakana u hranidbi životinja. Stoga, uslijed nastale sve veće kompeticije između hrane za ljude, hrane za životinje i energetike DDGS predstavlja izvrsno alternativno proteinsko krmivo u hranidbi preživača, ali i svih ostalih kategorija domaćih životinja.

Međutim, upotreba DDGS-a u hranidbi životinja ima i svoja ograničenja zbog varijabilnosti u sadržaju hranjivih tvari, probavljivosti hranjivih tvari, varijacija u fizikalnim karakteristikama te je neophodna standardizacija postupaka proizvodnje i ispitivanja dobivenog proizvoda.

Potrebno je osigurati značajnu količinu obrazovanja i tehničke podrške stočarima kako bi im se pomoglo u razvoju programa hranidbe koja uključuje upotrebu DDGS-a. Suvremena hranidba životinja tako treba biti orijentirana prema korištenju visokokvalitetnih alternativnih krmiva među kojima je DDGS važan segment, ali uz istovremeno važnu edukaciju stočara i uz suvremene pristupe za njihovo korištenje.

7. Literatura

1. Almeida F.N., Htoo J.K., Thomson J., Stein H.H. (2013). Amino acid digestibility of heat damaged distillers dried grains with solubles fed to pigs. *Journal of animal science and biotechnology*. 4(44): 10.
2. Ayadi F.Y., Muthukumarappan K., Rosentrater K.A., Brown M.L. (2011). Twin-screw extrusion processing of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feeds using various levels of corn-based distillers dried grains with solubles (DDGS). *Cereal Chemistry*. 88: 363–374.
3. Balan V. (2014). Current challenges in commercial producing biofuels from lignocellulosic biomass. *ISRN Biotechnology*. 1-31.
4. Balat M., Balat H., Cahide O. Z. (2008). Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy Combustion Science*. 34: 551–573.
5. Belyea R.L., Rausch K.D., Clevenger T.E., Singh V., Johnston D.B., Tumbleson M.E. (2010). Sources of variation in composition of DDGS. *Animal feed science and technology*. 159: 122-130.
6. Bertrand E., Vandenberghe L. P. S., Soccol C. R., Sigoillot J.-C., Faulds C. (2016). First Generation Bioethanol. *Green Energy and Technology*. 175–212.
7. Boila R.J., Ingalls J.R. (1994b). The ruminal degradation of dry matter, nitrogen and amino acids in wheat-based distillers' dried grains in sacco. *Animal feed science and technology*. 48: 57-72.
8. Bothast R.J., Schlicher M.A. (2005). Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. *Applied Microbiology Biotechnology*. 67: 19-25.
9. Böttger C., Südekum K. H. (2018). Protein value of distillers dried grains with solubles (DDGS) in animal nutrition as affected by the ethanol production process. *Animal feed science and technology*. 244: 11-17.
10. Böttger C., Südekum K.H. (2017a). European distillers dried grains with solubles (DDGS): Chemical composition and in vitro evaluation of feeding value for ruminants. *Animal feed science and technology*. 224: 66-77.
11. Böttger C., Südekum K.H. (2017b). Within plant variation of distillers dried grains with solubles (DDGS) produced from multiple raw materials in varying proportions: Chemical composition and in vitro evaluation of feeding value for ruminants. *Animal feed science and technology*. 229: 79-90.

12. Boucher S.E., Calsamiglia S., Parsons C.M., Stein H.H., Stern M.D., Erickson P.S., Utterback P.L., Schwab C.G. (2009a). Intestinal digestibility of amino acids in rumenundegraded protein estimated using a precision-fed cecectomized rooster bioassay: II. Distillers dried grains with solubles and fish meal. *Journal of dairy science*. 92: 6056-6067.
13. Bremer V. R., Watson A. K., Liska A. J., Erickson G. E., Cassman K. G., Hanford K. J., Klopfenstein T. J. (2011). Effect of distillers grains moisture and inclusion level in livestock diets on greenhouse gas emissions in the corn-ethanol-livestock life cycle. *The Professional Animal Scientist*. 27(5): 449-455.
14. Butzen S., Haeefele D. (2008). Dry grind ethanol production from corn. *Crop Insight*.
15. Cao Z.J., Anderson J.L., Kalscheur K.F. (2009). Ruminal degradation and intestinal digestibility of dried or wet distillers grains with increasing concentrations of condensed distillers solubles. *Journal of animal science*. 87: 3013-3019.
16. Cheng Z.J., Hardy R.W. (2004). Effects of microbial phytase supplementation in corn distiller's dried grain with solubles on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Aquaculture*. 15: 83-100.
17. Cozannet P., Primot Y., Gady C., Métayer J.P., Callu P., Lessire M., Skiba F., Noblet J., (2010b). Ileal digestibility of amino acids in wheat distillers dried grains with solubles for pigs. *Animal feed science and technology*. 158: 177-186.
18. Cozannet P., Primot Y., Gady C., Métayer J.-P., Callu P., Lessire M., Skiba F., Noblet J. (2010a). Composition and amino acids ileal digestibility of wheat distillers dried grains and solubles in pigs: Sources of variability. *Livestock science*. 134: 176-179.
19. Cromwell G.L., Herkelman K.L., Stahly T.S. (1993). Physical, chemical, and nutritional characteristics of distillers dried grains with solubles for chicks and pigs. *Journal of animal science*. 71: 679-686.
20. Davis K. S. (2001). Corn milling, processing and generation of co-products. In proceedings: Minnesota Nutrition Conference and Minnesota Corn Growers Association Technical Symposium, Minnesota, September 11.
21. De Boever J.L., Blok M.C., Millet S., Vanacker J., De Campeneere, S. (2014). The energy and protein value of wheat, maize and blend DDGS for cattle and evaluation of prediction methods. *Animal* 8: 1839-1850.
22. Delgado C., Rosegrant M., Wada N., Meijer S., Ahmed M. (2002). *Fish as Food: Projections to 2020 Under Different Scenarios*. MSSD Discussion Paper No. 52. International Food Policy Research Institute, Washington, DC.

23. Direktiva 2009/28/EZ Europskog parlamenta i Vijeća od 23. travnja 2009. o promicanju uporabe energije iz obnovljivih izvora te o izmjeni i kasnijem stavljanju izvan snage direktiva 2001/77/EZ i 2003/30/EZ.
24. Erb K. H., Mayer A., Kastner T., Sallet K. E., Haberl H. (2012). The impact of industrial grain fed livestock production on food security: an extended literature review. Commissioned by Compassion in World Farming, The Tubney Charitable Trust and World Society for the Protection of Animals, UK. Vienna, Austria.
25. FAO, (2012). The State of Food Insecurity in the World 2012. Economic Growth is Necessary but not Sufficient to Accelerate Reduction of Hunger and Malnutrition. Rome.
26. Fastinger N.D., Latshaw J.D., Mahan D.C. (2006). Amino acid availability and true metabolizable energy content of corn distillers dried grains with solubles in adult cecectomized roosters. Poultry science. 85: 1212-1216.
27. Fontaine J., Zimmer U., Moughan P.J., Rutherford S.M. (2007). Effect of heat damage in an autoclave on the reactive lysine contents of soy products and corn distillers dried grains with solubles. Use of the results to check on lysine damage in common qualities of these ingredients. Journal of agricultural food chemistry. 55: 10737-10743.
28. Gatlin III D.M., Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G., Krogdahl Å., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., Souza E.J., Stone D., Wilson R., Wurtele E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. Aquaculture Research. 38: 551-579.
29. Gerber P. J., Steinfeld H., Henderson B., Mottet A., Opio C., Dijkman J., Tempio G. i sur. (2013). Tackling climate change through livestock: a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
30. Ham G.A., Stock R.A., Klopfenstein T.J., Larson E.M., Shain D.H., Huffman R.P. (1994). Wet corn distiller's byproducts compared with dried corn distillers grains with solubles as a source of protein and energy for ruminants. Journal of Animal Science. 72: 3246-3257.
31. Han J., Liu K. (2010). Changes in composition and amino acid profile during dry grind ethanol processing from corn and estimation of yeast contribution toward DDGS proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58: 3430-3437.
32. Herrero M., Thornton P. K. (2013). Livestock and global change: emerging issues for sustainable food systems. Proceedings of the National Academy of Sciences, 110(52): 20878-20881.

33. Heuzè V., Tran G., Lebas F. (2017). Maize grain. Feedipedia, a programme by INRAE, CIRAD, AFZ and FAO.
34. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021. Pristupljeno 27. 9. 2021
35. Hünerberg M., Little S. M., Beauchemin K. A., McGinn S. M., O'Connor D., Okine E. K., McAllister T. A. (2014). Feeding high concentrations of corn dried distillers' grains decreases methane, but increases nitrous oxide emissions from beef cattle production. *Agricultural Systems*. 127(1): 19-27.
36. Hünerberg M., McGinn S. M., Beauchemin K. A., Okine E. K., Harstad O. M., McAllister T. A. (2013a). Effect of dried distillers grains plus solubles on enteric methane emissions and nitrogen excretion from growing beef cattle. *Journal of Animal Science*. 91(6): 2846-2857.
37. Hünerberg M., McGinn S. M., Beauchemin K. A., Okine E. K., Harstad O. M. McAllister, T. A. (2013b). Effect of dried distillers' grains with solubles on enteric methane emissions and nitrogen excretion from finishing beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*. 93(3): 373-385.
38. Ivanović M., Glavaš H., Gantner R. (2016). Biofuel in Croatia. *Journal of Microbiology & Microbial Technology*. 1(2): 5.
39. Johnson F. X. Linke-Hepp C. (2007). Industrial biotechnology and biomass utilisation: Prospects and challenges for the developing world. United Nations Industrial Development Organization. Vienna. 1-186.
40. Johnston D.B., McAloon A.J. (2014). Protease increases fermentation rate and ethanol yield in dry-grind ethanol production. *Bioresource technology*. 154: 18-25.
41. Khiaosa-Ard R., Metzler-Zebeli B. U., Ahmed S., Muro-Reyes A., Deckardt K., Chizzola R., Zebeli Q. (2015). Fortification of dried distillers grains plus solubles with grape seed meal in the diet modulates methane mitigation and rumen microbiota in Rusitec. *Journal of dairy science*. 98(4): 2611-2626.
42. Kim B.G., Kil D.Y., Zhang Y., Stein H.H. (2012). Concentrations of analyzed or reactive lysine, but not crude protein, may predict the concentration of digestible lysine in distillers dried grains with solubles fed to pigs. *Journal of animal science*. 90: 3798-3808.
43. Kim Y., Mosier N. S., Hendrickson R., Ezeji T., Blaschek H., Dien B., Ladisch M. R. (2008). Composition of corn dry-grind ethanol by-products: DDGS, wet cake, and thin stillage. *Bioresource technology*. 99(12): 5165-5176.

44. Kingsly A.R.P., Ileleji K.E., Clementson C.L., Garcia A., Maier D.E., Stroshine R.L., Radcliff S. (2010). The effect of process variables during drying on the physical and chemical characteristics of corn dried distillers grains with solubles (DDGS) – plant scale experiments. *Bioresource technology*. 101: 193-199.
45. Kleinschmit D.H., Anderson J.L., Schingoethe D.J., Kalscheur K.F., Hippen A.R. (2007). Ruminant and intestinal degradability of distillers grains plus solubles varies by source. *Journal of dairy science*. 90: 2909-2918.
46. Liu K. & Rosentrater K. A. (Eds.). (2016). *Distillers grains: Production, properties, and utilization*. CRC press.
47. Liu K. (2008). Particle size distribution of distillers dried grains with solubles (DDGS) and relationships to compositional and color properties. *Bioresource technology*. 99: 8421-8428.
48. Liu K. (2011). Chemical composition of distillers grains, a review. *Journal of agricultural food chemistry*. 59: 1508-1526.
49. Liu K.S., Han J.C. (2011). Changes in mineral concentrations and phosphorus profile during dry-grind process of corn into ethanol. *Bioresource Technology*. 102: 3110–3118.
50. Machacek K. J., Kononoff P. J. (2009). The relationship between acid detergent insoluble nitrogen and nitrogen digestibility in lactating dairy cattle. *The Professional Animal Scientist*. 25(6): 701-708.
51. Makkar H. P. (2016). Animal nutrition in a 360-degree view and a framework for future R&D work: towards sustainable livestock production. *Animal Production Science*. 56(10): 1561-1568.
52. Marić V. (2000). *Biotehnologija i sirovine*. Stručna i poslovna knjiga d.o.o, Zagreb.
53. Mauron J. (1990). Influence of processing on protein quality. *Journal of nutritional science*. *Vitaminol*. 36: S57-S69.
54. McAloon A., Taylor F., Yee W. i sur. (2000). Determining the cost of producing ethanol from corn starch and lignocellulosic feedstocks.
55. Monceaux D.A., Kuehner D. (2009). Dryhouse technologies and DDGS production. In: Ingledew W.M., Kelsall D.R., Austin G.D., Kluhspies C. (Eds.), *The Alcohol Textbook*. 5th edition. Nottingham University Press. Nottingham, UK. 303-322.

56. Mosqueda M.R.P., Tabil L.G., Christensen C. (2013). Effect of drying conditions and level of condensed distillers solubles on protein quality of wheat distillers dried grain with solubles. *Drying technology*. 31: 811-824.
57. Nakamura T., Klopfenstein T.J., Britton R.A. (1994). Evaluation of acid detergent insoluble nitrogen as an indicator of protein quality in nonforage proteins. *Journal of animal science*. 72: 1043- 1048.
58. Naylor R.L., Hardy R.W., Bureau D.P., Chiu A., Elliott M., Farrell A.P., Forster I., Gatlin D.M., Goldberg R.J., Hua K., Nichols P.D. (2009). Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences of U. S. A.* 106: 15103-15110.
59. Nigam P.S., Singh A. (2011). Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in energy and combustion science*. 37: 52-68.
60. Noll S. E., Parsons C. M., Dozier III. W. A. (2007). Formulating poultry diets with DDGS— How far can we go? *Proceedings of the 5th Mid Atlantic Nutrition Conference*, ed. N. G. Zimmerman. University of Maryland, College Park, March 28–29, 2007.
61. NRC, (1998). *Nutrient Requirements of Swine, 10th Revised Edition*, National Academy Press.
62. Nuez Ortín W.G., Yu P. (2009). Nutrient variation and availability of wheat DDGS, corn DDGS and blend DDGS from bioethanol plants. *Journal of the science of food and agriculture*. 89: 1754-1761.
63. Oltjen J. W., Beckett J. L. (1996). Role of ruminant livestock in sustainable agricultural systems. *Journal of Animal science*. 74(6): 1406-1409.
64. Pahm A.A., Pedersen C., Stein H.H. (2008). Application of the reactive lysine procedure to estimate lysine digestibility in distillers dried grains with solubles fed to growing pigs. *Journal of agricultural food chemistry*. 56: 9441-9446.
65. Powers W.J., Van Horn H.H., Harris B. Jr. and Wilcox C.J.. (1995). Effects of variable sources of distillers dried grains plus solubles on milk yield and composition. *Journal of dairy science*. 78: 388-396.
66. Quintero J. A., Montoya M. I., Sánchez O. J. i sur. (2008). Fuel ethanol production from sugarcane and corn: comparative analysis for a Colombian case. *Energy*. 33: 385–399.
67. Rezić T., Ivančić Šantek M., Andlar M., Pavlečić M., Šantek B. (2016). Usporedba različitih tehnika proizvodnje bioetanol iz lignoceluloznih sirovina. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*. 11(1-2): 6-17.

68. Rosentrater K.A., Ileleji K., Johnston D.B. (2012). Manufacturing of fuel ethanol and distillers grains – current and evolving processes. In: Liu K.S., Rosentrater K.A. (Eds.), *Distillers Grains*. CRC Press. Boca Raton, USA. 73-102.
69. Salami S. A., Luciano G., O’Grady M. N., Biondi L., Newbold C. J., Kerry J. P., & Priolo A. (2019). Sustainability of feeding plant by-products: a review of the implications for ruminant meat production. *Animal Feed Science and Technology*.
70. Sapna, Chaudhary S.D., Mandhania S., Srivastava P., Kumar A., Kumar R., S. Kumar R.S. (2011). *Corn to Ethanol: Retrospect's and Prospects*. Maize: Leading to new Paradigm.
71. Shurson G.C., Tilstra H., Kerr B.J. (2012). Impact of United States biofuels co-products on the feed industry. In: Makkar, H.P.S. (Ed.), *Biofuel Co-Products as Livestock Feed – Opportunities and Challenges*. FAO, Rome. 35-59.
72. Shurson J. & Noll S. (2005). Feed and alternative uses for DDGS (No. 804-2016-52518).
73. Stein H.H., Connot S.P., Pedersen C. (2009). Energy and nutrient digestibility in four sources of distillers dried grains with solubles produced from corn grown within a narrow geographical area and fed to growing pigs. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 22: 1016-1025.
74. Steinfeld H., Gerber P., Wassenaar T. D., Castel V., Rosales M., Rosales M., de Haan C. (2006). *Livestock's long shadow: environmental issues and options*. Food and Agriculture Organization.
75. Ivančić Šantek M., Miškulin E., Beluhan S., Šantek B. (2016). Novi trendovi u proizvodnji etanola kao biogoriva. *Kemija u industriji*, 65 (1-2):25-38.
76. Tanghe S., De Boever J., Ampe B., De Brabander D., De Campeneere S., Millet S. (2015). Nutrient composition, digestibility and energy value of distillers dried grains with solubles and condensed distillers solubles fed to growing pigs and evaluation of prediction methods. *Animal feed science and technology*. 210: 263-275.
77. Van Soest P.J., Mason V.C. (1991). The influence of the Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. *Animal feed science and technology*. 32: 45-53.
78. Viktor M.J., Rose S.H., Van Zyl W.H., Viljoen-Bloom M. (2013). Raw starch conversion by *Saccharomyces cerevisiae* expressing *Aspergillus tubingensis* amylases. *Biotechnology for biofuels*, 6(1): 1-11.
79. Waters C.J., Kitcherside M.A., Webster A.J.F. (1992). Problems associated with estimating the digestibility of undegraded dietary nitrogen from acid-detergent insoluble nitrogen. *Animal feed science and technology*. 39: 279-291.

80. Westreicher-Kristen E., Steingass H., Rodehutsord M. (2012). Variations in chemical composition and in vitro and in situ ruminal degradation characteristics of dried distillers' grains with solubles from European ethanol plants. Archives of animal nutrition. 66: 458-472.
81. Whitney M.H., Spiels M.J., Shurson G.C., and Baidoo SK. (2000). Apparent ileal digestibilities of corn distiller's dried grains with solubles produced by new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. Journal of animal science. 78: 185 (Suppl. 1).
82. Wilson J.A., Whitney M.H., Shurson G.C., and Baidoo S.K.. (2003). Effects of adding distiller's dried grain with solubles (DDGS) to gestation and lactation diets on reproductive performance and nutrient balance in sows. Presented at the 2003 Midwest ASAS/ADSA Meeting, Des Moines, IA.
83. Wu H., Meng Q., Yu Z. (2015). Effect of pH buffering capacity and sources of dietary sulfur on rumen fermentation, sulfide production, methane production, sulfate reducing bacteria, and total Archaea in in vitro rumen cultures. Bioresource technology. 186: 25-33.
84. Xu G., Baidoo S. K., Johnston L. J., Bibus D., Cannon J. E., Shurson G. C. (2010). Effects of feeding diets containing increasing content of corn distillers dried grains with solubles to grower-finisher pigs on growth performance, carcass composition, and pork fat quality. Journal of Animal Science 88: 1398-1410.
85. Yamada E.A., Sgarbieri V.C. (2005). Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: preparation, chemical composition, and nutritional and functional properties. Journal of agricultural food and chemistry. 53: 3931-3936.
86. Yáñez J.L., Beltranena E., Cervantes M., Zijlstra R.T. (2011). Effect of phytase and xylanase supplementation or particle size on nutrient digestibility of diets containing distillers dried grains with solubles cofermented from wheat and corn in ileal-cannulated grower pigs. Journal of animal science. 89: 113-123.
87. Yoosin S., Sorapipatana C. (2007). A study of ethanol production cost for gasoline substitution in Thailand and its competitiveness: thammasat. The International Journal of Science & Technology. 12: 69-80.

Popis korištenih poveznica:

1. INA

https://www.ina.hr/wp-content/uploads/2020/01/NOVO-bio-goriva-brošura_4_1_2017_v01.pdf

8. Životopis

Sara Matek rođena je 02.06.1996. u Zagrebu. Pohađa opću IX. Gimnaziju u Zagrebu od 2011. do 2015. godine. Nakon završetka srednje škole, 2015. godine upisuje Ekološku poljoprivredu na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Nakon uspješnog završetka preddiplomskog, upisuje diplomski fakultet 2019. godine, također na Agronomskom fakultetu na smjeru Obnovljivih izvora energije u poljoprivredi, osnovanom iste godine. Posjeduje razumijevanje, govor engleskog jezika te pisanje na razini B2.