

TVORBA PRIBUDLINY PRI SPRACOVANÍ MELASY NA LIEH

DEZIDER TOMEČEK

Západoslovenský liehový priemysel n. p. v Leopoldove

K zdanlivo paradoxným úkazom, opísaným v autorovej práci [1], možno podať takéto vysvetlenie:

a) *Vracanie kvasníc*

V melasových záparách, pripravených na 10 obj. % alkoholu a spracovaných Boinotovým kvasným spôsobom, v dôsledku vracania kvasníc namnožením sa tvorí namiesto 0,5 kg/hl celého obsahu len 0,1 kg/hl doplňujúcej kvasničnej sušiny. Z toho sa dá usúdiť, že kvasnice budú oproti klasickému, na predkvas založenému kvaseniu pri tomto kvasnom spôsobe asimilovať len $\frac{1}{5}$, t. j. 20% N-látok a úmerne k tomu sa vytvorí namiesto normálnych 0,4 kg len 0,08 kg pribudliny na 1 hl alkoholu v získanom surovom liehu. V podobnom smysle sa vyslovujú aj Heinzelmann a Dehnicke [2].

Prevádzkové skúsenosti však nenasvedčujú tomu, že by sa pri práci s vracaním kvasníc tvorilo menej pribudliny. V množstve predajnej pribudliny, získanej pri rafinácii surového liehu, pochádzajúcej zo zápar kvasených či už rozmnožením kvasníc z predkvasu, teda klasickým spôsobom, či vracaním kvasníc podľa Boinota, na základe výrobných záznamov sa rozdiel nedá zistiť. Pri kolorimetrickom stanovení vyšších alkoholov v surovom melasovom liehu, vyrobenom v tej istej továrni vo dvoch po sebe nasledujúcich dňoch zo zápary, kvasenej prv spôsobom klasickým, potom pri vracaní kvasníc, javí sa určitý rozdiel v smysle nášho očakávania, pretože sa zistilo, že vyšších alkoholov bolo:

pri klasickom spôsobe	0,59 kg/hl alkoholu,
pri Boinotovom spôsobe	0,46 kg/hl alkoholu.

Získané čísla sú zrejme len relatívne správne, neudávajú teda absolútny obsah pribudliny v liehu. Nás však viac zaujíma, že rozdiel, prejavujúci sa v nich, nie je dosť výrazný a ani zďaleka nedosahuje teoretický predpoklad, podľa ktorého by mal surový lieh pri vracaní kvasníc obsahovať vyššie alkoholy v množstve $0,59 : 5 = 0,12$ kg/hl alkoholu, oproti 0,46 kg/hl alkoholu, ako sa zistilo. Je pravdepodobné, že rozdiel, ktorý sa javí medzi obsahom pri-

budliny v skúšaných vzorkách surového liehu, získaného na základe predkvasu a vrátenia kvasníc ako násady, podmienený je rozdielnym složením pribudliny, ktorá sa v týchto prípadoch tvorí, a táto okolnosť vplýva na farbu pri kolorimetrickom stanovení pribudliny, teda aj na číselný výsledok analýzy.

Toto všetko len podopiera správnosť vysvetlenia, ktoré ďalej nasleduje. Znamená to, že hoci sa aj pri vracaní kvasníc z 0,5 kg/hl v zápore prítomnej kvasničnej sušiny priebehom vytvorenia 10 obj. % alkoholu čiastka 0,4 kg/hl neregeneruje, pretože sa dodáva do zápary hotová na vrchole svojho vývinu, predsa sa zúčastňuje na spotrebe N-látok práve tak ako množiace sa a vzrastajúce kvasnice.

Oprávnenosť tohto vysvetlenia pre náš zdanlivý paradoxón si môžeme podoprieť niektorými vedomosťami o disimilačnej činnosti kvasničnej bunky. Už samo alkoholické kvasenie je vlastne výsledkom takejto disimilácie a tým viac tvorba pribudlinových súčiastok, ku ktorej dochádza priebehom celého kvasenia vzápätí anaeróbnej asimilácie N-látok; ale aj pri aeróbnej a pseudo-aeróbnej asimilácii týchto N-látok sa stretávame s paralelným vylučovaním vyšších N-slúčenín. V Jonášovom diele [3] nachádzame údaj, že za podmienok odlišných od liehovarskej melasovej práce kvasnice disimilujú, teda do skvášaného cukorného roztoku vracajú 2 až 8% svojho obsahu N v podobe proteínov a peptónov, pri zvýšenej cukornej koncentrácii a nižšej kvasnej teplote však ešte viac. Skutočnosť, že uvedených 2 až 8% nie je nijakou vrchnou hranicou, dosvedčuje okrem tohto aj Claassenov údaj [4], podľa ktorého v určitom prípade z pridaných 100 dielov anorganického N kvasnice podržaly v tele 88,5 dielov, 11,5 dielov vykázaných v roztoku však nebol zvyšok neasimilovaného anorganického N, ale disimilát vo forme vysokomolekulovej. Kvasnice teda spotrebovaly celých 100 dielov N, keď si však zaokryly svoju potrebu 88,5 dielmi N, disimilovaly 11,5 dielov, t. j. počítajúc na ich N-obsah $100 \times 11,5 : 88,5 = 13\%$ N. Ivanov, Krupinka [5] a Euler-Fink [6] uverejnili, že z kvasníc vystupujú práve priebehom celého kvasenia, najmä však po dosiahnutí hranice vzrastu buniek časti proteínu, ktoré sa nahrádzajú zo súčasne asimilovaného N, prítomného v kvasiacom roztoku. V Illiesovom článku [7] sa nachádza referát o prácach, týkajúcich sa disimilácie N-látok kvasnicami, podľa čoho Lampitt uvádza, že kvasnice priebehom kvasenia a množenia vylučujú zo svojho tela do 25% celého prijatého N, podľa Nielsenových pokusov však do 29%. Ba ak berieme do úvahy, že nekontrolovateľné množstvo týchto exkrementov kvasnice opäť straviujú, môže sa u kvasníc bohatých na N smelo počítat s 33%-nou disimiláciou. Pri výskumných prácach, konaných na Katedre kvasnej chémie Vysokej školy chemickej v Prahe, týkajúcich sa tvorby kyseliny mliečnej a glycerolu kvasnou cestou, zistili podľa ústnej zprávy docenti Ing. Dr. Dyr a Ing. Dr. Grégr, že keď

skvášali čistú sacharózu s výhradne anorganickými prísadami, aby získali výrobok pokiaľ možno nesfarbený, proti všetkému očakávaniu dostali produkty onič jasnejšie ako pri skvášaní surového cukru, obsahujúceho melasu. Ukázalo sa, že sfarbenie zapríčiňujú predovšetkým N-látky vysokej molekulovej váhy, ktoré sa pri spracovaní čistej sacharózy dostaly do kvasnej tekutiny disimiláciou z mikroorganizmov alebo ich autolýzou.

Z uvedených poznatkov si môžeme pre náš prípad vyvodit tieto pravidlá: S určitým kvasným výkonom kvasníc je spojená aj ich s týmto výkonom úmerná látková premena všeobecne, teda aj premena N-látok, a preto aj s vytvoreným alkoholom úmerná tvorba pribudliny. Jedine takto je vysvetliteľné, že pri vracaní kvasníc podľa Boinota napriek sníženej tvorbe kvasničnej sušiny vznikne na získaný etanol počítajúc to isté množstvo pribudliny ako pri klasickej kvasiarenskej práci.

b) *Výhody vracania kvasníc*

Na tomto mieste sa bude treba odchyliť od nášho zamerania, pretože predchádzajúce pravidlo obsahuje podklady pre kritickú úvahu, týkajúcu sa kvasného spôsobu vracaním kvasníc podľa patentov Boinot-Usines de Melle, a bolo by chybou nechať si ujsť túto príležitosť objasnenia, aj keď to nevpadá presne do rámca tejto štúdie. Pérard r. 1935 uverejnil, že sa v kvasiacej repnej zápare kvasnice prestanú množiť, len čo koncentrácia kvasničnej sušiny dosiahne 3 g v 1 l zápary. Podľa Pasteura, Duclauxa a iných spotrebujú kvasnice na výstavbu 1 g sušiny vo svojom tele 1,8 g cukru. Z týchto dvoch poznatkov vznikla myšlienka vracania kvasníc, t. j. oddelenia hotových kvasníc z vykvasenej zápary pomocou separátora vo forme kvasničného mlieka a nasadenia takého istého množstva čerstvej zápary týmto kvasničným mliekom. Výsledok by bol ten, že sa kvasnice v novom prostredí nemnožia, ale len kvasia, takže sa na 1 l zápary 3 krát $1,8 = 5,4$ g cukru neprevedie na 3 g kvasničnej sušiny, ale na $5,4$ krát $60\% = 3,24$ ml alkoholu, o ktorý podiel sa výťažok zvýši. Dnes síce vieme z prevádzky liehovarov spracujúcich melasu, že hranica množenia kvasníc je pri 0,5 kg kvasničnej sušiny v 1 hl zrelej zápary, že však po prekonanom kvasení z týchto kvasníc 20%, t. j. 0,1 kg odumrie (autolyzuje) a len 0,4 kg podiel prechádza do kvasničného mlieka ako násada pre nasledujúci kvasný proces, aby sa tu namnožením doplnil opäť na 0,5 kg v 1 hl zápary. To však na zásade veci nič nemení.

Kto pozná priemysel výroby liehu z melasy, ten vie, na aké ťažkosti naráža porovnávanie dvoch kvasných spôsobov s hľadiska výťažnosti. Na výsledkoch z kvasných pokusov, vykonaných za laboratórnych pracovných podmienok, vôbec sa nedá stavať a prirovnanie v prevádzkovom meradle je zasa hatené tým, že sa výroba nemôže z hospodárnostných dôvodov narušo-

vať pokusmi. V posledných 15 rokoch sa po zavedení kvasenia s vracaním kvasníc vo všetkých do úvahy prichádzajúcich liehovaroch spracujúcich melasu robily porovnávacie pokusy, zamerané na zistenie prínosu nového kvasného spôsobu, ktoré však, čo sa zvýšenia výťažku týka, viedly k neurčitým, neistým, ba dokonca pochybným výsledkom. Ak uvážime, že kvasnice aj bez množenia už po ukončení vzrastu buniek disimilujú a súčasne aj znova asimilujú, je pochopiteľné, že sa Pérardove predpoklady pri spracovaní melasy nespĺnily, iba kvasná doba sa v dôsledku zvýšeného množstva aktívnych kvasníc výdatne skrátila, očakávané zreteľné zvýšenie výťažku však nastať ani nemohlo. K takému náhľadu dospeli, nevedno akou cestou, napr. aj technologovia NDR, lebo jedine to môže vysvetliť nápadný zjav, že sa tam do r. 1952 ani v jednom z priemyselných liehovarov spracujúcich melasu neujala kvasiarenská práca podľa Boinot-Usines de Melle.

Nám sa tu v smysle predchádzajúceho nesporne javí logická súvislosť medzi nezmenenou tvorbou pribudliny a medzi nedosiahnutím zvýšenia výťažku alkoholu v dôsledku zavedenia kvasného spôsobu s vracaním kvasníc.

c) *Vplyv koncentrácie záparty*

Na 0,5 kg kvasničnej sušiny, ktorá sa v 1 hl záparty bez ohľadu na jej koncentráciu a na jej z toho plynúci konečný obsah alkoholu vytvorí, vznikne normálne ku kvasniciam úmerných 0,04 kg pribudliny, ktorá prechádza do surového liehu. Z toho nasleduje, že obsah pribudliny v surovom liehu by mal byť nepriamo úmerný alkoholovitosti, prípadne cukornej koncentrácii pôvodnej záparty. S prevádzkovými výsledkami sa tento predpoklad dá len nedokonale dokázať. Bezpečne vieme len to, že v melasovom surovom liehu, získanom zo záparty s 10 obj. % alkoholu, pripadá na 100 l alkoholu obyčajne 0,4 kg pribudliny; k nižším koncentráciám zápar sa však v priemyselných liehovaroch z dôvodov hospodárnosti nesiaha.

Surový lieh, dodávaný do skladísk rafinérií z poľnohospodárskych liehovarov, nepochádza z melasy, ale mal v predchádzajúcich desaťročiach na západnom Slovensku pôvod prevažne z repných zápar s 5—7 obj. % alkoholovitosti, a pretože sa obyčajne rafinoval spolu s melasovým surovým liehom z priemyselných liehovarov, prevádzkové výťažky pribudliny z neho zvlášť známe nie sú. Jednako azda zavážia na prirovnanie kolorimetrické stanovenia vyšších alkoholov v poľnohospodárskom surovom liehu, ako ich pre túto štúdiu vykonalo laboratórium Stredoslovenského kvasného priemyslu, n. p. v Trenčíne, a to s priemerným výsledkom okolo 0,55 kg pribudliny na 1 hl etanolu. To naznačuje, že pôvodné poľnohospodárske záparty mohli obsahovať približne $10 \text{ obj. \%} \times 0,4 \text{ kg} : 0,55 \text{ kg} = 7,3 \text{ \%}$ alkoholu, čo leží v hraniciach predchádzajúceho údajaja a podopiera tak náš predpoklad.

Ešte vážnejší dôkaz predstavuje obsah pribudliny v droždiarenskom surovom liehu. Vo vykvasenej droždiarenskej zápare sa vytvorí asi 1 obj. % alkoholu, to znamená, že by nový droždiarenský lieh mal obsahovať na 100 l alkoholu 0,4 krát 10 = 4 kg pribudliny. V skutočnosti sa v droždiarni skvása síce melasa, lenže typicky aeróbne a za prídavku amoniakálneho N. Ako vieme, oba tieto faktory pôsobia proti tvorbe pribudliny. Podľa informácií získaných od V. Stuchlíka sa však napr. v trenčianskej droždiarni za účelom úspory anorganických živín takéto v posledných hodinách množenia kvasníc nepridávajú, aby tak boli kvasinky nútené spracovať aminokyseliny z melasy prítokovým spôsobom pripúšťanej, v dôsledku čoho je v tejto poslednej fáze kvasenia daná príležitosť pre tvorenie pribudliny, a to tak, že napriek jemnému vzduchovaniu pomocou keramických rozdeľovačov sa mnohé kvasinky nedostanú so vzduchom do styku a pracujú ako by v anaeróbnom prostredí. Tak je vysvetliteľné, že sa v droždiarenskom surovom liehu síce nedosiahnu teoreticky očakávané 4 kg pribudliny na 1 hl alkoholu, ale oproti 0,4 kg obsahu v surovom liehu z melasových liehovarov nachádzame v ňom predsa na trojnásobok zvýšené množstvo pribudliny, a to podľa prevádzkových výsledkov z normálnej rafinácie a nasledujúcej rerafinácie vedľajších frakcií spolu okolo 1,3 kg na 1 hl etanolu.

Kladným prínosom pre posúdenie tejto otázky je aj Bártfay-Pelcova práca [8]. Autori vykonali laboratórne kvasné pokusy v roztokoch s 25 až 10 g cukru a s rovnakými dávkami po 0,5 g leucínu v 100 ml, z ktorých získali tieto výsledky:

alkohol v zápare obj. %	14,8	11,6	10,3	8,50	6,75	5,00
pribudlina g/100 ml zápary	0,16	0,17	0,18	0,16	0,16	0,15
g pribudliny na 100 ml alkoholu	1,08	1,31	1,75	1,89	2,37	3,01

Ako vidieť, množstvo pribudliny, vytvorenej v 100 ml zápary, bolo prakticky konštantné, pretože, ako vieme, aj množstvo v nej vytvorenej kvasničnej sušiny je konštantné a z toho nasleduje, že množstvo pribudliny, prepočítané na získaný alkohol, má byť nepriamo úmerné obsahu alkoholu v zápare. Nevykonan sa ten istý kvasný pokus s melasou, ale iba podobný v užších hraničiacich, takže nevedol k jednoznačným a výrazným výsledkom:

alkohol v zápare obj. %	0,6	0,2	0,1
pribudlina g/100 ml zápary	0,005	0,002	0,001
g pribudliny na 100 ml alkoholu	0,83	1,00	1,00

Z našich predchádzajúcich úvah vyplýva, prečo autori, ktorí skúmali najmä vplyv prídavku aminokyselín do kvasných tekutín na tvorbu pri-

budliny, neuvádzajú pokus s vyššími koncentraciami melasy. Melasová zápara obvyklej koncentrácie totiž obsahuje nadbytok pribudlinotvorných aminokyselín, takže prídavok napr. leucínu sa u nej vôbec neprejavuje vo zvýšenej tvorbe pribudliny a pri krajne nízkych koncentráciách, kde sa začína prejavovať, sú len stopy pribudliny, ktorých analytické stanovenie nie je dost presné na to, aby mohlo slúžiť za dôkaz pri nadhodenej otázke. Jasným potvrdením správnosti našej predstavy však je výsledok pokusu, uvedený na prvom mieste.

Po tomto zdôvodnení môžeme tvrdiť, že vplyv koncentrácie záparty na obsah pribudliny v surovom liehu je skutočnosťou, že ide o zjav doteraz nesledovaný, ale nie paradoxný. Na anaeróbne vedené liehovarské kvasenie melasových zápar teda platí pravidlo, že je v nich obsah pribudliny v surovom liehu v nepriamom pomere k alkoholovitosti zápar.

Súhrn

V poslednom polstoročí sa náš kvasný priemysel častejšie stretal s požiadavkou, aby pri normálnom spracovaní melasy bola zvýšená produkcia pribudliny. Doteraz sa však nepodarilo vyhovieť tomuto želaniu.

Bilancovaním množstva aminokyselín v melasových záparách, obsahu v nich namnoženej kvasničnej sušiny a vytvorenej pribudliny po vykvasení na 10 obj. % alkoholu sme v tejto štúdií dospeli k uzáveru, že sa pre výstavbu kvasničného tela a s tým spojenú tvorbu pribudliny nepotrebuje celé v zápore prítomné množstvo aminokyselín. Z toho sa vyvodzuje, že sa pri obvyklej výrobe melasového liehu tvorba pribudliny nemôže ovplyvniť ani prídavkom pribudlinotvorných N-látok ani zmenou pracovných podmienok, pretože je táto úmerná vytvorenej kvasničnej sušine, ktorá vzhľadom na objem záparty vykazuje prakticky konštantnú hodnotu. Zo štúdie plynú ďalej tieto poznatky:

1. Použitím pracovného spôsobu s vracaním kvasníc sa síce potláča množenie kvasiniek, nedotýka sa to však ich premeny látkovej, takže tvorba pribudliny ostáva nezmenená.

2. V dôsledku disimilačnej a asimilačnej činnosti nemnožiacich sa dospe-
lých kvasiniek pri Boinotovom spôsobe vracania kvasníc nemožno očakávať ani splnenie úspory cukru a teda ani zvýšenie výťažnosti, ktoré táto pracovná metóda pôvodne sľubovala.

3. Pri anaeróbnom kvasení melasových zápar na rôzne alkoholovitosti stojí obsah pribudliny v získanom etanole v nepriamom pomere k alkoholovitosti vykvasenej záparty, pretože sa v rovnakých objemoch týchto zápar tvorí rovnaké množstvo kvasničnej sušiny a tým aj rovnaké množstvo pribudliny.

Выводы

За последних пятьдесят лет наша бродильная промышленность часто встречалась с требованием при нормальной обработке мелассы повышать продукцию сивушного масла. До сих пор не удалось исполнить это желание.

Рассмотрением баланса количества аминокислот в мелассовых заторах, содержания в них накопленного дрожжевого сухого вещества и полученного сивушного масла после выквашения на 10% спирта мы пришли к выводу, что для постройки тела дрожжей и с этим связанного получения сивушного масла не нужно все количество аминокислот, присутствующее в заторе. Из этого можно сделать вывод, что при обычном производстве мелассового спирта творение сивушного масла нельзя регулировать ни добавкой веществ, поддерживающих получение сивушного масла, ни изменением условий работы, потому что оно является пропорциональным полученному дрожжевому сухому веществу, которое в отношении к объему затора имеет практически постоянную величину.

Из статьи вытекают далее следующие данные:

1. Применением приема работы с возвращением дрожжей подавляется размножение спелых дрожжевых грибов, но это не касается их обмена веществ, так что творение сивушного масла не изменяется.

2. Вследствие дессимиляционного и ассимиляционного действия не размножающихся спелых дрожжевых грибов при способе Боаната возвращения дрожжей, нельзя ожидать ни выполнения экономии сахара и, значит, ни повышения выхода которое этот метод первоначально обещал.

3. При анаэробном брожении мелассовых заторов на разные содержания спирта, содержание сивушного масла в полученном этаноле является обратно пропорциональным содержанию спирта выквашенного затора, так как в равных объемах этих заторов образуется равное количество дрожжевого сухого вещества и с этим и равное количество сивушного масла.

Получено в редакции 12-го ноября 1952 г.

FUSELÖLBILDUNG BEI DER VERARBEITUNG VON MELASSE AUF ALKOHOL

ДЕЗИДЕР ТОМЕЧЕК

Westslowakische Spiritusindustrie in Leopoldov

Zusammenfassung

In den letzten Jahrzehnten wurde öfters an unsere Spiritusindustrie die Forderung einer Erhöhung der Fuselölproduktion bei der usuellen Melasseverarbeitung gestellt, doch gelang es vorderhand nicht diesen aus dem jeweiligen Bedarf sprießenden Ansprüchen genüge zu leisten.

Die vorliegende Studie hat durch eine Bilanzierung der Aminosäuren in den industriellen Melassemaischnen, sowie an Hand ihres Gehaltes an frischgebildeter Hefetrockensubstanz und des in ihnen entstandenen Fuselöles den Beweis erbracht, dass zum Hefekörperaufbau und folglich zur Fuselölbildung nur ein Bruchteil jener Aminosäuren, die in den auf 10% Endalkohol gestellten Melassemaischnen vorhanden waren, verbraucht wird. Daraus folgt zwangsläufig, dass man bei der üblichen Melassenspirituserzeugung die Fuselölentstehung weder durch fuselbildende Zusätze, noch durch ein Ändern der Betriebsverhältnisse beeinträchtigen kann, da die Menge des gebildeten Fuselöles mit der gebildeten Hefekörpermasse in einem proportionalen Verhältnis stehen muss, diese letztere aber auf das Maischevolumen gerechnet praktisch konstant ist.

Diese Überlegungen führen weiter zu folgenden Erkenntnissen:

1. Bei dem Gärverfahren mit Heferückführung wird zwar die Hefevermehrung unterdrückt, doch der Stoffwechsel der Hefe bleibt unverändert, so dass sich an der Menge des gebildeten Fuselöles kein Unterschied erkennen lässt.

2. Infolge des unveränderten Stoffumsatzes der Hefe bei ihrer Rückführung darf die versprochene, aber oft bestrittene Zuckerersparnis und somit auch eine erhöhte Alkoholausbeute nicht erwartet werden.

3. Eine anärobe Gärführung der auf verschiedenen Endalkoholgehalt gestellten Melassemaischen vorausgesetzt, wird der Fuselölgehalt in der Volumeneinheit aller Maischen praktisch gleich bleiben, weil diese Volumina das gleiche Quantum an Hefetrockensubstanz entwickelt haben; folglich muss aber der Fuselölgehalt des gewonnenen Alkohols im umgekehrten Verhältnis zum Alkoholgehalt der vergorenen Maischen stehen.

In die Redaktion eingelangt den 12. XI. 1952

LITERATÚRA

1. Tomeček D., Chem. zvesti 5, 231 (1951). Pozri odsek VI, str. 241.
2. Heinzelmann, Dehnicke, Ztschr. f. Spiritusindustrie 316, 326, 247 (1915).
3. Jonáš, Technologie drožďarství, Praha 1951, 111.
4. Claassen, Ztschr. f. analyt. Chemie, 880 (1926).
5. Ivanov, Krupinka, Biochem. Ztschr. 202, 255.
6. Euler—Fink, Ztschr. f. Physiol. Chemie 157, 222.
7. Illies, Ueber die N-Assimilation der Hefe, Berlin 1938, 413.
8. Bártfay—Pelc, Élelmezési ipar, Budapest 1951, 204—208.

Došlo do redakcie 12. XI. 1952