

## Selekčné metody, výroba násadného droždía a jeho uplatnenie v poľnohospodárskych liehovaroch

663.52:663.13

E. PIŠ a L. PAŠTĚKA

*Autoři pojednávají o zakvašování zápar v hospodářských lihovarech přímo násadním droždím. V článku jsou uvedeny výsledky získané praktickým vyzkoušením tohoto způsobu.*

Charakterom zdravej technológie je neustály vývoj a rozvoj, vertikálny i horizontálny. Zatiaľ čo mnohé vedy, založené na železnej logike matematiky a fyziky, riešia priam fantastické úlohy, zatiaľ veda o živote mikroorganizmov len nesmelo postupuje od výsledkov Pasteura a iných. Ak sa prirazieme k vývoju kvasného priemyslu za posledných 50 rokov a ak sledujeme terajší stav liehovarského priemyslu, musíme uznať, že toto odvetvie kvasného priemyslu používa ako základný kvasný faktor kultúru *Sacharomyces cerevisiae* rasa XII., izolovanú pred 50. rokmi v Nemecku. Je isté, že ako kvasinky, tak i iné mikroorganizmy, treba pomaly, ale do istej miery degenerujú. Stačí nám poukázať na droždiareňskú prax. Používaná droždiareňská kultúra, ktorá sa v cykloch pripravuje k priemyselnému množeniu, časom v svojich biologických výkonoch ochabuje a treba ju regenerovať. Toto ochabovanie čistých kultúr, udržiavaných v laboratóriu, kde sú iné podmienky a možnosti ako vo výrobnom procese, musí byť vyrovnávané dlhým regeneračným procesom, „novou kultúrou“. Kmene z prevádzky podliehajú vlivom laboratorného prostredia, ktoré je veľmi odlišné od pôvodného prevádzkového prostredia, v ktorom sa vytváral typ vyživovania a biochemický charakter kultúry. Vlivom dlhodobého pôsobenia vznikajú na základe prispôsobivosti, o ktorej sú naše vedomosti ešte medzerovité, značné zmeny v biologickom charaktere jedinca. Tieto zmeny sa dedia a usmerňujú ďalší výber, pričom sú mikroorganizmy tesne späté s vonkajšími podmienkami prostredia, v ktorom žijú. Zmenou prostredia dochádza zákonite k súbežným zmenám biologických vlastností. K týmto zmenám dochádza rýchle alebo pomaly, podľa konzervatizmu mikroorganizmu. Zvláštnosť vzájomných vzťahov jednobunecných organizmov k vonkajšiemu prostrediu vedie k vzniku buniek, ktoré majú stabilnú protoplazmu a schopnosť sa prispôbiť meniacim sa podmienkam prostredia. Účinnosť týchto organizmov sa úspešne pojí s fyziologickou aktivitou a širokou amplitúdou individuálnej prispôbovosti. Z hľadiska prevádzky má premenlivosť mikroorganizmov v súvislosti so zmenou kultivačného prostredia veľký význam. Poznaním vzťahov: premenlivosť mikroorganizmov — okolité prostredie, sa priblížime k praktickému riešeniu zlepšovania a špecializovania jednotlivých mikroorganizmov, pretože ich súčasné technické využitie má široké praktické uplatnenie.

Základný postulát: premenlivosť mikroorganizmov okolitým prostredím a národohospodárske hľadisko pomáhajú v mnohom napredovať i v praktickom kvasnom odbore a klásť požiadavky na kultúry mikroorganizmov, ktoré môžeme zhrnúť: dobrá množivosť, biologická stabilita, rovnováha enzymatických polí, možnosť živenia i anorganickými

živinami, odolnosť jedincov oproti nepriaznivým životným podmienkam, trvalá reprodukateľnosť fyziologických i morfológických vlastností.

Droždiareň v užšom slova zmysle možno definovať ako zariadenie, umožňujúce plný rozvoj kultúry *Sacharomyces cerevisiae* v tvorbe svojej biologickej substancie. V širšom slova zmysle možno zahrnúť i produkciu iných kvasničných kultúr, používaných v poľnohospodárskych, priemyselných a ovocných liehovaroch, majúcich za účel spracovávať svojou enzymatickou produkciou mnohých biologických katalyzátorov dodávané uhlohydrátové suroviny na kvalitný produkt — etylalkohol, s charakteristickými vyžadovanými i nevyžadovanými produktami. Zrentabilnenie produkcie je možné len zlepšenou organizáciou výroby, použitím dobrých kvasničných kultúr, ktoré majú za sebou dlhé kultivačné procesy.

Droždiareň v Trenčíne zachycovala mnohé popudy, tvoriace základ, na ktorých možno zlepšiť prácu i produkované biologické hodnoty. Otázka výživy, kultivácie a selekcie kultúr bola na prvom mieste.

Výživa kvasničných buniek je daná zlúčeninami prvkov, obklopujúcich jej semipermeabilný povrch makromolekúl, ktoré rozdelujeme na makroelementy, biogenné či plastické prvky, majúce menšiu atomovú váhu a hlavnú stavebnú i energetickú funkciu, na mikroelementy, tiež stopové prvky, ktoré svojimi katalytickými funkciami pozitívne, ba nutne regulujú oxydoredukčné pochody, a na ultraelementy, ktorých funkcia nie je úplne známa. Príslušným zlúčením plastických prvkov je daný základnou surovinou, melasou a anorganickými solami, ktorých kvalitnejší stav je príčinou i dobrých výsledkov. Táto surovina je daná, rovnako i jej kvalita výsevom, rastom i technologickým spracovaním a droždiareňský pracovník nemá možnosť jej kvalitný stav zlepšiť. Pri kolísavom zložení a viacfázovosťou výroby možno predpokladať a analyticky dokázať nedostatok skvasiteľného organického dusíka, mikroelementov a mnohých biologických stimulátorov typu bios.

Význam mikroelementov, či biokatalyzátorov, rovnako i látok bios, bol aj mnohými prácami potvrdený. Ich dopĺňajúca funkcia predstavuje možnosť zlepšovania biologickej kvality kvasničných buniek, čo pri dnešnom forsírovanom výkone droždiarní je veľmi nutné, lebo je úplne zrejma závislosť funkcie kvality na kvantite. Mikroelementy i kompletiny predstavujú zložitý mechanizmus stimulátorov, katalyzátorov, prevádzajúcich funkciu mechanických presunov, chemických syntéz i analýz tak bohatých, v tak nepatrnom rozmere ako je kvasinka, ktorá dosahuje v svojom najdlhšom rozmere 8—10 mikronov.



V trenčianskej droždiarni preto bola snaha doplniť a uplatniť tieto dôležité súčiastky biologickej, mierne vyzrutej hmoty — protoplazmy. Mikroelementy sa dopĺňali vo forme dvoch zmesí „Stopynal“ a „MEB-49“. Optimálna koncentrácia po prevedení pokusoch je táto: Zriedenie 1 : 500 — 1 : 600 je toxické, unavuje a degeneruje mikroorganizmus, koncentrácia 1 : 750 — 1 : 1000 je optimálnym stimulátorom kvasných procesov s bohatou tvorbou alkoholu. Koncentrácia 1 : 7000 — 1 : 10 000 je optimálnou pre stimuláciu tvorby bielkovinnej substancie, zdravej a odolnej, pripravenej na aklimatizáciu. Dávkovanie je výhodnejšie udrzovaním vyžadovanej koncentrácie prítokovým spôsobom.

V protoplazme kvasničnej buňky prebiehajú dvojité procesy nerozlučne späté. Je to asimilácia, ktorou nastáva výstavba a prestavba prijatých látok, a disimilácia, ktorou sa niektoré látky živého organizmu rozkladajú, uvoľňujú svoju vnútornú energiu a zvyšky produktov celkovej oxydácie sa vylučujú ako metabolity.

Okrem látok s prvkami zo skupiny plazmatickej a katalytickej treba živné prostredie doplniť vzrastovými látkami s účinkom bios, pretože rovnovážny stav živného prostredia je stravovaním a vylučovaním metabolitov mikroorganizmami porušovaný. Živné prostredie je preto treba vymenšovať alebo dopĺňať a regenerovať. Jednou z látok, predstavujúcich dobrý doplnok živného prostredia, je zahusťovaná kukuričná máčacia voda, známa pod menom corn-steep. Slúži ako hlavná živina v priemysle antibiotík. V droždiarni sa osvedčila pri propagácii kvasiniek v množstvách 0,5 % na cukor v melase. Obsahuje pantothenát vápenatý, kyselinu listovú, amid kyseliny nikotinovej, biotin, riboflavín.

Obdobnou látkou, vlastniacou kompletiny, sú butanolové výpalky, ktoré však sú asi 10× menej účinné ako corn-steep. Pri celkovom zhrnutí treba konštatovať, že kvasinky sú citlivé i na nepatrné zmeny prostredia. Vzhľad i zloženie buncného obsahu sa stále mení. Je dôležité, ak má byť buncný mikroorganizmus akostne vyrovnaný, zadržať fázu stárenia buňky, buňku akosi omladzovať, udrzovať v stave sviežosti a harmónii komplexu fermentov.

V sérii pokusov, prevedených v trenčianskej droždiarni s týmito tromi druhmi kompletínov, sa zistilo, že:

1. pri práci s výťažkami droždia v medziach 50 až 60 % na melasu možno konštatovať zvýšenie výťažnosti pridaním týchto kompletínov. Kvalita, vyjadrená trvanlivosťou, biologickým stavom kvasiniek a kysnutím je vyrovnanjšia.

2. Pri práci s výťažkami droždia nad 70 % na melasu sa nezvyšuje výťažnosť prídavkom kompletínov. Kvalita droždia je však podstatne lepšia a vyrovnanjšia ako u droždia vyrobeného bez týchto prídavkov.

3. Pri práci s vysokými výťažkami droždia možno udrzovať kvalitu droždia na výške pridaním kompletínov.

V ďalšej fáze kultivovania kvasničných buniek je zaradenie prostredia výrazne nepriaznivého, majúceho za účel prispôbiť, adaptovať celkovú biologickú stavbu buňky na nepriaznivejšie podmienky, alebo na podmienky, ku ktorým je nútený výrobca siahnúť, aby eliminoval vplyv infekčných mikro-

organizmov. Je to spôsob vykyselovania kvasničných kultúr minerálnymi a organickými kyselinami.

Vykyselovanie predstavuje určitý selektčný spôsob, lebo silne kyslé prostredie núti kvasničné buňky k výberu. V trenčianskej droždiarni sa vypracoval výber droždiarenských kvasiniek sedimentačnou metódou, ktorá je ľahko prevediteľná bez nebezpečia sekundárnej infekcie. Selekcia sa prevádza v sterilnom 2 % roztoku kyseliny mliečnej, alebo N kys. citrónovej, alebo 0,2 N  $H_2SO_4$  týmto spôsobom:

1. Na kvasničný sediment na dne Freudenreichovky sa po odliatí vykvasenej sladinky naleje — do rovnakej výšky ako bola pôvodná výška sladinky — 2 % sterilný roztok kyseliny mliečnej z Freudenreichovky a dobre sa rozmieša.

2. Za  $\frac{1}{2}$  až  $\frac{3}{4}$  hodiny sa usadí na dne Freudenreichovky malý podiel kvasiniek, pozostávajúci z väčších, ťažších buniek. Tieto sú obvykle v droždiarenskom i liehovarníckom kvasení lenivé. Kvasničná suspenzia nad touto usadeninou sa opatrne zleje do Freudenreichovky, v ktorej bol pôvodný sterilný roztok kyseliny mliečnej, tak, aby kvasničný sediment ťažších buniek zostal na dne.

3. Odliata kvasničná suspenzia sa vo Freudenreichovke dobre rozmieša a nechá sedimentovať. Za 2—4 hodiny sa obsah Freudenreichovky asi z poloviny vyčerí, pričom sa na dne vytvorí usadenina z kvasiniek. V tomto okamihu nad usadeninou sa nachádzajúca tekutina, ktorá v zakalenom podiele obsahuje drobné a ľahké kvasničné buňky, sa odleje a na dne ostávajúci kvasničný sediment sa použije k ďalšiemu rozmnožovaniu. Obsahuje buňky strednej veľkosti. Častým opakovaním tohto postupu dosiahne sa tvarového vyrovnania kvasničných buniek.

Po vykyselovaní sa kvasničnou usadeninou inokuluje živný roztok, u ktorého sa úmyselne udrzuje pH pri nízkych hodnotách (3,9—4,2).

Týmto striedavým postupom, prevádzaným nepretržite dlhší čas, možno adaptovať kvasničný kmeň na odolnosť k silne kyslému prostrediu. Po počiatkových adaptačných pasážach v prevádzke uchová si kvasničný kmeň svoju vlastnosť, to je odolnosť voči kyslému prostrediu a maximálnu fermentačnú prácu v tomto prostredí. Okrem zvýšenia spoľahlivosti droždiarenskej prevádzky sa tento adaptovaný kvasničný kmeň uplatnil ako násadné droždie pri kvasení v poľnohospodárskych liehovaroch. Pri kontrolných rozboroch, vzťahovaných na základnú liehovarskú kultúru rasa M, ktorej prekvas bol rovný 100 %, prekvášal adaptovaný kmeň v obilnej zápare na 97—98 % a v zemiakovej zápare na 96—97 %. Tieto výsledky plnili predpoklad uplatnenia v poľnohospodárskych liehovaroch priamym zakvasovaním alebo vedením zákvasu, o čom rozhodne iste usporiadanie poľnohospodárskeho liehovaru, surovina, prevádzková voda.

Zakvasovanie liehovarských zápar zákvasom, pripraveným i z čistých kultúr, je iste chľostivejšie, ako zakvasovanie priamo násadným liehovarským droždím. Vedenie zákvasu vynucuje opatrnosť, opatrnú prácu, čistotu použitých surovín a kvasných priestorov. Je tu možnosť kontaminácie cudzími mikroorganizmami s väčším faktorom množenia a ich dostatočné prevládnutie, najmä v prípadoch nevhod-



ného zeleného sladu, nevyhovujúcej prevádzkovej vody. Pri príprave tohto druhu zákvasu sa odporúča použiť adaptovaný liehovarský kmeň s dobrou množivosťou a teda dostatočnou koncentráciou buniek a tým i tvorby potrebných kvasných fermentov a značnou odolnosťou oproti kyslému prostrediu, ktorý nutne treba vyvolať v prípade nevhodnej suroviny, prevádzkovej vody, aby bolo možné potlačiť flóru mikroorganizmov, vegetujúcich v slabokyslom alebo neutrálnom prostredí. Preto volíme pri práci s adaptovanou kultúrou hodnotu pH pod 4,5, vyvolanou anorganickou alebo organickou kyselinou, ako je  $H_2SO_4$ , kys. mliečna. Pri príprave priameho zákvasu násadným droždím pre každú kaďu zvlášť použijeme vykyselovací spôsob, ktorým sa môže eliminovať prípadná infekcia baktériami a potlačenie menej odolných kvasničných buniek. Vykyselovací kúpeľ sa pripraví z kyseliny sírovej, a to v takom množstve, aby acidita bola okolo 20 ml 0,2 N NaOH. Pri tomto stupni možno vykyselovať 1 hodinu. Pri zvýšení acidity na 30 ml 0,2 N NaOH nemá vykyselovanie trvať viac ako  $1\frac{1}{2}$  hodiny.

Zákvas pripravujeme: do čistej (sterilnej) nádoby dáme 10 l odtečenej vody, v ktorej suspendujeme 1,5–2,5 kg násadného liehovarského droždía, na sladkú záparu z 30 q zemiakov. Suspenziu okyselíme kyselinou sírovou na 20 ml 0,2 N NaOH a po dôkladnom zamiešaní necháme 1 hodinu vykyselovať. Tým sa kvasné bunky i stimulujú k vyššej činnosti. Vykyselenú kvasničnú suspenziu použijeme k ďalšiemu kvaseniu. Tento spôsob zakvasovania predpokladá dostatok násadného liehovarského droždía, vždy v čerstvom stave.

Použitím tohto spôsobu v našich poľnohospodárskych liehovaroch v minuloročnej kampani sme dosahovali prekvas 0,6–0,8 °Bg, aciditu 0,5 N NaOH/100 ml a prekvasená zápara obsahovala už len 0,05 % red. látok.

Výhody tohto spôsobu boli zverejnené i v Technickom pokroku v Gottwaldovej päťročnici potravinárskeho priemyslu, z ktorého citujeme:

„U väčšiny podnikov sa prevádza zakvasovanie pomocou zákvasu, ktorý je v mnohých prípadoch vedený v primitívnych kádčákach, alebo inde v dokonalejších, avšak veľmi nákladných a ťažko čistiteľných zákvasných prístrojoch. Preskúvalo sa a do prevádzky sa zaviedlo zakvasovanie zápar v poľnohospodárskych liehovaroch priamo násadným droždím. Používa sa tu asi 1,5 kg zdravého lisovaného droždía na 30 q zemiakov. Droždie sa najskôr podrobí kyselinno-sírovému kúpeľu a potom sa ním zakvasuje pri obvyklej násadnej teplote. Takto sa opäť znižuje potreba manuálne pracujúcich asi o tri pracovné hodiny pre podnik za 24 hodín.

V závodoch, kde je závadná prevádzková voda, možno takto dosiahnuť priemernej výťažnosti 64–65 l absol. alkoholu zo 100 kg škrobu.“

Na celoštátnom vyhodnotení kampane v poľnohospodárskych liehovaroch za rok 1952/53 sa odporúčalo používať tohto spôsobu zákvasu pre každú kaďu samostatne. MPP však tento spôsob zamietlo s odôvodnením, že takéto priame zakvasovanie by znamenalo zvýšené množstvo spotreby droždía, najmä násadného, ku ktorej výrobe je potrebné vždy viac času, melasy a ostatných pomocných látok.

V našom národnom podniku sme však tento spôsob preskúšali a došli sme k uvedeným už výsledkom a preto sme tento spôsob navrhli pre ostatné podniky vo forme zhospodárnenia výroby v poľnohospodárskych liehovaroch.

Uvedený príklad z praxe podporuje prácu droždiarenských praktikov na zlepšovaní selekčných metód, nových technologických postupov výroby lisovaného i násadného droždía. Ako zaokrúhlenie uvedených metód pripojujem náčrt budúceho vývoja v droždiarni.

Zhospodárňovanie výrobných úsekov je umožnené lepšou organizáciou práce, veľkorysou mechanizáciou, socialistickou súťažou a snahou pretvárať periodicky pracujúce prevádzkové úseky v polokontinuitné, ba kontinuitné. V trenčianskej droždiarni bola vypracovaná výrobná metóda polokontinuitnej výroby kvasných organizmov, ktorá zhospodárňuje výrobu zvýšením kapacity o 20 %, o čom svedčí doterajší praktický úspech prevádzky. V budúcnosti treba previesť polokontinuitný spôsob v kontinuitný, aby bolo maximálne využité kapacity výroby. Tento kontinuitný spôsob možno riešiť dvojakým spôsobom: klasickým, založeným na prepracovaní trenčianskeho polokontinuitného spôsobu, alebo úplne novým riešením dynamického množenia mikroorganizmov, tzv. prietokovou metódou akademika Málka. Akademik Málek zistil, že mikroorganizmy ako *Escherichia coli* a sporujúce bacile za podmienok stáleho prítoku živín sa množia omnoho intenzívnejšie ako v statickej kultivácii, čili vznikajú celkom nové pomery, ktoré takéto kultúry odlišujú od pomerov kultúr statických a kultúry sa udržiavajú za týchto podmienok snáď neobmedzene dlho v dobrom stave. Mikroby z týchto kultúr za dobrých podmienok si udržiavajú vlastnosti, ktoré odpovedajú vlastnostiam mikróbov v najrannejšej fáze exponenciálneho rastu, udržiavajú si vysokú fermentatívnu aktivitu. Presunom týchto skúšok a faktorov na experimentálnu výrobu kvasničných mikroorganizmov dosiahol rovnaké výsledky, vyjadrené v číslach 175 až 280 mg kvasničnej sušiny zo 100 mg spracovaného cukru. Toto dynamické množenie nenastáva ihneď, ale až po 5–6 dňoch adaptačnej kultivácie, keď vznikajú špecifické pomery pre prietokovú metódu, podľa ktorej sa dosahuje vysokých výsledkov. Tieto experimenty v malom vyžadujú však vyskúšanie a prepracovanie pre prevádzkové pomery nielen krmných mikroorganizmov, ale aj lisovaného droždía.

V droždiarenskej praxi ostávajú ešte mnohé otázky nezodpovedané, ako napríklad aglutinácia a lá mavosť droždía, otázka výťažkov droždía a liehu, vysokých výťažkov, jemného vetrania.

Je nádej, že s postupujúcim budovaním priemyslu, reagujúceho na zdravé podnety, a aktívnym praktickým výskumom bude možné nezodpovedané otázky zodpovedať ako prínos zlepšenia, zmodernizovania priemyslu a tým i životnej úrovne nášho pracujúceho ľudu.

#### Literatura:

1. I. Málek: Kultivace droždí průtokovým způsobem, ne-  
publ. kované.
2. V. Stuchlík: Selekčné metody pri výbere a vedení ná-  
sadného droždía v trenč. droždiarni, nepublikované.
3. Jerusalemskij: Význam mikroelementov pre acetón-  
etylové baktérie — Sovětská diskuse o selekci prů-  
myslových mikroorganizmů 1951–1952.