

# Výběr kvasinek pro průmyslové lihovary

663.52:662.13

J. BARTA

*Autor upozorňuje na zásady potřebné ke správnému výběru kvasinek pro průmyslové lihovary. Podává informaci o použití nové lihovarské rasy kvasinek.*

Selekce kvasinek pro melasové lihovary se řídí:

- a) používanou surovinou — melasou,
- b) výrobním postupem v našich závodech.

Vzhledem k melase musí mít kvasinka schopnost:

1. Zkvašovat nejen co nejrychleji sacharosu a invert, ale i štěpit těžko zkvašitelné cukry, jako rafinosu, na fruktosu a disacharid melibiosu. Melibiosa potom má zůstat jako jediný „zbytkový cukr“. Velmi vhodnou by potom byla rasa, mající schopnost dále štěpit melibiosu v jednu molekulu glukosy a jednu molekulu galaktosy a i tyto složky posléze alkoholicky zkvasit. Dalším požadavkem je potom, aby inverse sacharosy byla co nejrychlejší.

Průběh odkvašování jednotlivých komponent i rychlost inverse můžeme sledovat metodami papírové chromatografie.

2. Nevytvářet mnoho vedlejších produktů, jako glycerol (na př. vinařské rasy kvasinek Malaga, Sherry atd.), organické kyseliny (na př. kyselina vinná, jantarová), estery, 2,3 butylenglykol atd.

3. Vytvářet co nejméně biomasy, t. j., aby bylo co nejnižší t. zv. optimální celulární nasycení, které je u každé rasy různé. Enzymatická činnost musí být ovšem u rasy vytvářející méně biomasy intenzivnější. Tomuto předpokladu vyhovují nejlépe malobuněčné rasy kvasinek. Poža-



davek vytvářet co nejméně biomasy je v souvislosti se schopností kvasinky asimilovat různé dusíkaté látky v melase, t. j. především amino-kyseliny a amidy i s působením růstových látek (z melasy) na množení buněk. Koncentrace, poměr cukrů k necukrům, obsah solí, zejména draselných atd., hraje zde také důležitou úlohu v chování různých kvasičných ras.

Máme na příklad zjištěno, že určitá průmyslová rasa asimiluje vedle lysinu, leucinu, asparaginu, kyseliny asparagové a alaninu kyselinu glutaminovou, kdežto jiná ji ponechává intaktní. Myslím, že právě rozdíly v asimilaci aminokyselin by posloužily i k systematickému hodnocení rodů, druhů a ras kvasinek, neboť diagnostika podle Diddens-Lodderové, založená na asimilaci dusíkatých látek, t. j. dusíku dusičnanového, amoniakálního, asparaginu, peptonu a močoviny, zdá se být pro hodnocení ras příliš hrubá. Ve VÚKP se pracuje na schopnostech kvasičných ras asimilovat různé aminokyseliny.

4. Neprojevit degeneraci při dlouhodobém vedení na melasové zápaře co nejméně dotované přidavnými živinami, t. j. pouze fosforem. Degenerace záleží samozřejmě na složení substrátu, t. j. i na ročníku melasy.

Podle zatímčných zkušeností můžeme říci, že nenastávají-li po páté až desáté pasáži degenerace, můžeme potom již počítat s adaptací směřující k udržení a zlepšení biochemických vlastností.

5. Je samozřejmě, že kvašení musí probíhat rovnoměrně i při zpracovávání zápar o vysoké koncentraci sušiny a při optimální lihovitosti asi 10–10,5 obj. procenta.

Vzhledem k výrobnímu postupu jsou podmínky pro kvasinku opět speciální.

a) Optimální teplota má být co nejnižší, t. j. maximálně 32 °C, jinak by nastávaly ztráty na lihu a zvětšená možnost uplatnění infekce.

b) Aglutinace a předčasná sedimentace kvasinek je nepřijatelná. Vznikaly by obtíže při separaci, sušení atd., neboť většina závodů pracuje podle způsobu Boinotova neb Jacqueminova se získáváním kvasičných proteinů a závodů pracujících klasickou metodou Jacqueminovou je již málo a i ty budou postupně technologicky postup modernisovat. Kvasinka tedy musí pracovat v nesedimentující suspensi.

c) Snášet značná rozmezí pH (od 4,0 do 7,5 nebo 1,8–2,2 v kyselé lázni kvasičného mléka u způsobu Boinotova).

d) Vzdržet vůči infekci zejména vůči bakteriím mléčným typu *Terrobacterium* a *Streptococcus*, méně pak octovým, máselným *Clostridiím*, skupině *Mesentericus* atd.

e) Podle způsobu výroby snášet střídavě podmínky aerobní i anaerobní (způsob Jacqueminův) nebo pouze anaerobní (Boinot).

f) Vhodná rasa musí vydržet mnohonásobné převádění na melasové sladiny i za vcelku nesterilních podmínek (ochranná acidita) nebo po odstředění a kyselé lázni pracovat rovněž s nezmenšenou aktivitou.

Vedle těchto všeobecných zásad je potom třeba uvažovat o celé řadě specifických podmínek závislých na technologickém postupu, zařízení atd. každého závodu.

Uvedenými zásadami se ovšem prvotní — primární — výběr kvasinky ihned neřídí. Bylo by téměř nemožné ihned od počátku provádět tak složité testy, zvláště analyticky náročné s větším počtem kvasičných ras.

Především zjišťujeme vůbec zásadní vlastnosti jako růst na melasovém substrátu, tvorbu CO<sub>2</sub>, mikrobraz a jiná běžná kritéria. Ve druhé řadě potom provádíme kvasné zkoušky i pro zkoušení kvality melasy podle standardní sovětské metody takto:

V kádince se odváží 100 g melasy a za použití dobré pramenité vody se melasa rozmíchá a spláchne do kvasné baňky o objemu 1 l. Podobně se připraví roztok melasy pro druhou baňku. Roztok melasy v obou baňkách se okyslí kyselinou sírovou na kyselost 1 ml N NaOH na 100 ml roztoku melasy. Do každé baňky odvážíme 0,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Jedna z baňek se steriluje varem 30 min a po ochlazení na 20 °C se sterilně dováží vodou na původní váhu. Obě baňky se zakvasí 10 ml suspence čisté kultury.

Baňky se uzavrou kvasnými uzávěry s konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a postaví se do termostatu při 30 °C. Průběh kvašení se kontroluje denním vážením. Po skončení kvašení se z obsahu každé baňky vydestiluje 300 ml destilátu. V destilátu se stanoví obsah alkoholu pyknometricky a údaj se přepočte na 100 g melasy (resp. také na cukr). Je-li rozdíl mezi obsahem alkoholu v obou baňkách větší než 0,5–1 %, znamená to, že melasa je bakteriálně infikována. Kvasné zkoušky provádíme obvykle na několikrát pasážování na melasové sladiny 12 °Blg a ve srovnání s osvědčenými lihovarskými rasami jako na př. rasa Libeň, Pardubice a pod. Melasu volíme dobré jakosti s nízkým obsahem invertu a rafinosy a s nižším obsahem asimilovatelného dusíku.

V případě, že uvedené zkoušky vyzní příznivě, provádíme laboratorní kvasné přítokové pokusy, v nichž se již přibližujeme technologickému postupu, jakého se běžně používá. Nejjednodušší je přezkoušet způsob Jacqueminův. U těchto pokusů sledujeme již více ukazatelů a u konečných pokusů i kritéria, o kterých jsem se zmínil na počátku této zprávy. Jsou-li po těchto pokusech výsledky příznivé, což se projevuje hlavně ve výťažnosti ethylalkoholu počítané na polarizační cukr, můžeme bez obav přikročit již k větším pokusům a případně i k zavedení do provozu. Je samozřejmě, že teprve v provozních pokusech vyniknou charakteristické vlastnosti nové rasy a vlastní proměření je směrodatné až v této fázi.

Vlastní izolace, ať již ji provádíme z květových nektarů, šťav, plodů, syropů, vzduchu a pod., provádíme na substrátech melasových (nečeřená melasa 12 °Blg + 0,5 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>, pH 5,8–6,0 pomocí H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 1 % agaru + 8 % želatiny). Teplota 28 až 30 °C.

Vedení kultur provádíme zcela jednotně stále na tekutém substrátu, jak to provádí jeden z našich nejlépe pracujících závodů.

Obdobně byl prováděn výběr nové lihovarské rasy kvasinek, zavedené již do provozu v jednom z našich lihovarů, izolované z egyptských třtinových melas



spolu s mnoha druhy jiných kvasinek, z nichž byl potom proveden výběr. Tato kvasinka patřící pravděpodobně mezi příbuzné druhu *Sacharomyces maninii* byla nazvána *Sacharomyces tropicus*. Kultura se osvědčila i v aplikaci na melasách řepných a většinu užívaných ras předčila co do dosahované výtěžnosti ethylalkoholu v souvislosti se zkvašováním rafinosy, nižší tvorbou glycerolu a buněčné hmoty atd.

Při prvních provozních zkouškách se sice zvýšila výtěžnost lihu o 0,75 %, avšak projevila se nevýhoda této rasy v mimořádném sklonu k aglutinaci již na počátku hlavního kvašení. Bylo proto nutno kvasinku dále šlechtit, protože by její aplikace byla výhledově omezena pouze na závody pracující starým způsobem. Výběr byl vcelku jednoduchý; z prokvašených zápar po sedimentaci většiny buněk byly z vrchní části izolovány normální metodikou jedinci, kteří byli znovu a znovu převáděni na melasové substráty a výsledkem bylo získání několika kmenů, které vykazaly minimální sedimentaci ke konci kvašení. S těmito kmeny byly nasazeny znovu srovnávací kvasné zkoušky. Většina získaných kmenů si podržela i vlastnosti původní kultury a s takto získaným nejlepším kmenem byly provedeny zkoušky. Výsledkem těchto zkoušek, prováděných ve srovnání s dříve používanou rasou, bylo zvýšení výtěžnosti o 1,20 % ethylalkoholu, počítáno na polarisační cukr.

Předchozí výsledky dosahované v laboratoři a poloprovozních zkouškách se potvrdily. Rafinosa byla úplně prokvašována a jako jediný zbytkový cukr zůstávala melibiosa. V průběhu kvašení se tvořilo glycerolu menší množství, právě tak jako biomasy. V prokvašované zápaře se jevil vyšší amidický dusík u kvasinky nové nežli u kvasinky dříve používané. Z provozních zkoušek uvádíme některá čísla:

Kulturou *Sacharomyces tropicus* zpracováno 18 438,5 q melasy o polarisaci 50,31 %, t. j. 9205 q cukru a vyrobeno 5694,5 hl a. a. Dosaženo výtěžnosti 61,85 %. Zbytkový cukr se pohyboval od 0,1 do 0,25 %, acidita byla 0,9—2,0 ml N NaOH. Lihovitost zápary byla 9,0—10,0 obj. % alkoholu, kvasničné hmoty bylo 3,5—5 g/l.

I přes potvrzení výsledků při pokusu v tak velkém měřítku, kdy bylo do práce vzato 18 000 q melasy, nemůže se s konečnou platností tvrdit, že rasa kvasinky by stabilně dávala vyšší výtěžnosti nežli rasy jiné. Především může na výsledek mít vliv složení melasy, jejíž složky se každým rokem mění a potom technologický postup v závodě.

Výsledky s novými provozními rasami se musí tedy sledovat na několika ročníchích melasy a teprve budou-li výsledky konstantní, bude možno potvrdit dobrou funkci kvasinky ve směru zvyšování výtěžnosti lihu.