

Príspevok k octovému kvaseniu

661.731.52/.55

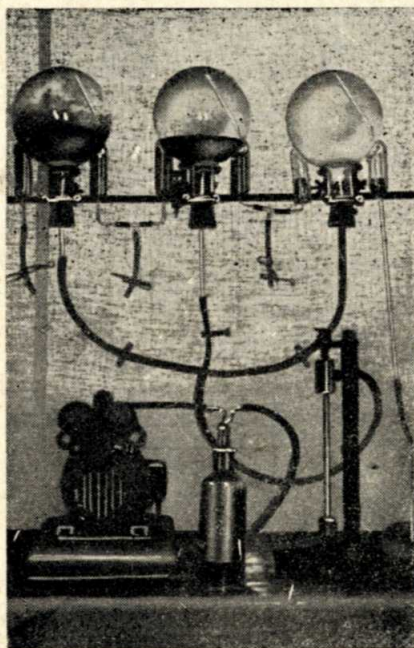
J. HRONČEK

Vývoj technológie octárenstva v našich vedeckých ústavoch a laboratóriách vyvrátil názor o dokonalosti klasických spôsobov výroby octa. Dôkazom toho je submerzný spôsob výroby, ktorý autor v článku popisuje.

Veľa rokov ubehlo od čias primitívnej výroby octu orleánskym spôsobom po dnešnú výrobu octa vo Fringsových ocotniciach. Veľa vedeckých pracovníkov obracalo svoju pozornosť octovému kvaseniu, či už to boli mikrobiológovia ako Hansen, Beijerinck, Henneberg, atď., alebo technológovia ako Schützenbach, Wüstenfeld a Frings. Ak pozeráme na výsledky ich prác, zdá sa nám, že octové kvasenie je už dokonale spracované a že nemožno dojsť k väčším prekvapeniam. Táto mienka spôsobila na čas akési ustrnutie vo vývoji octárenstva. V poslednom čase sa znovu začínajú s octovým kvasením zaoberať vo vedeckých ústavoch a laboratóriách. Prof. Hromatka a po ňom i iní (1—6) ukázali, že sa vývoj technológie octárenstva môže uberať aj inou cestou, ako tou, ktorú naznačil Schützenbach.

Octové baktérie ako striktné aeroby potrebujú k svojej životnej činnosti veľké množstvo vzduchu, rozpusteného vo výživnom substráte. Aby sa vzdušný kyslík mohol čo najlepšie rozpúšťať v substráte, je potrebné zostrojiť vhodný absorbér, ktorý by v dostatočnej miere splnil dané požiadavky. Doteraz sa používajú výplňové veže — Fringsové veľkocotnice. Veľkocotnice staviame u nás na základe empirických skúseností, pretože inžinierske prepočty absorpčných pochodov sú sťažené chemickými reakciami kyslíka so substrátom, ktoré neprebiehajú jednoznačne (7), čo je spôsobené zmesnou kultúrou octových baktérií. Upútané kvasenie potrebuje na náplň dvojnásobok priestoru, potrebného na jeho zbernú časť. Okrem toho prevádzkové nedostatky tohto kvasenia pozná každý octár. Výplňovými ab-

sorbérmi neskončila však možnosť absorpcie kyslíka a ostatných zložiek vzduchu vo veľkom. Chemický priemysel dávno používa prebublávacie a rozprašovacie absorbéry. Prebublávacie absorbéry sa čoraz lepšie uplatňujú vo fermentačnej technológii. Me-



Obr. 2. Aparát pre štúdium submerzného octového kvasenia zostrojený zo sulfidových baniek. Vetranie sa robí motorom cez „Frit G 4“.



Obr. 1. Plynová premývačka, vhodná pre adaptáciu octových baktérií pre submerzné octové kvasenie.

chanizmus prebublávania nie je ešte preštudovaný do tej miery, aby bolo možné vzniklé vzťahy vyjadrovať v rovniciach. Vlastností niektorých typov týchto absorbérov ich predurčujú na submerznú kultiváciu v kvasnom priemysle. Ich použitie v octárenstve nebolo doteraz zavedené. Bude však veľmi zaujímavé zistiť vzťahy, ktoré vzniknú pri kultivácii tak striktných aeróbov, ako sú octové baktérie. Úspešný výsledok by pomohol vyriešiť otázku submerzu vôbec.

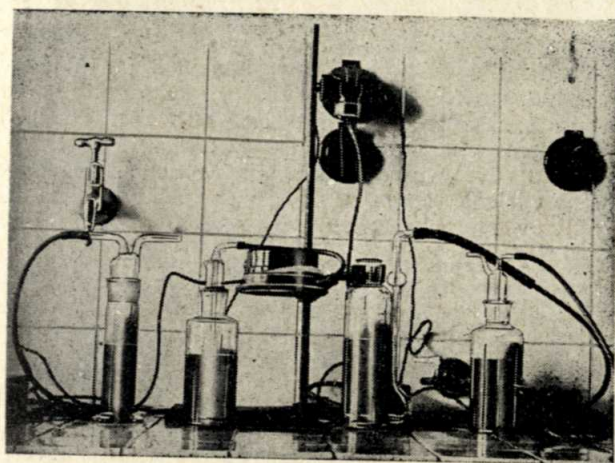
Prvé pokusy submerzného kvasenia s octovými baktériami, ktoré robil A. Wister v polprevádzkovom meradle v octárni Žilina, priniesli nové poznatky pre upútané kvasenie. Pre submerzné kvasenie sa však pokusy skončili s nezdorom. Prišlo sa preto k základnému laboratórnemu výskumu. Najprv bolo treba zistiť, či kyslík rozpustený v substráte, je v takej koncentrácii, aby nepoškodil octové baktérie. Presvedčil nás o tom tento pokus: z čerstve odobratej stružliny z ocotnice Frings odtrhol sa malý úlomok a ponoril do červeného vína, ktoré malo 11 % alkoholu a 0,53 % kyselín (ako octová) a predtým sa 6 hodín vetrало v plynovej

premývačke. Po ponorení stružliny prerušilo sa vetranie na 3 hodiny. Po 3 hodinách sa stružlina vložila do skúmavky so sterilným vínom tak, aby časť stružliny bola nad tekutinou.

Po siedmich dňoch sa objavil zákal vo víne a nepatrná mázdríčka. Kontrolná stružlina bola ponorená na 3 hodiny do nevetraného vína a potom vložená do skúmaviek so sterilným vínom. Zákal sa objavil na 11. až 15. deň.

Pokus 2.: Do Erlenmayerovej baňky sme dali pôdu Henneberg I. (8), do ktorej sa vložila stružlina z ocotnice tak, aby jej polovica vyčnievala zo substrátu. Do substrátu sme pridali metylénovú modrú v koncentrácii 3,4 ml/l. Po 20 dňoch sa titrovala acidita a zistilo sa, že vzrast acidity bol u vzoriek s metylénovou modrou značnejší, čo potvrdzuje, že metylénová modrá nahradila určitú časť rozpustného kyslíka. Po týchto pokusoch sme prišli k izolácii, adaptácii a selekcii mikroorganizmov. Volili sme dve cesty:

1. Izoláciu čistých kultúr z rôzneho materiálu a pokus o submerznú kultiváciu čistej kultúry.



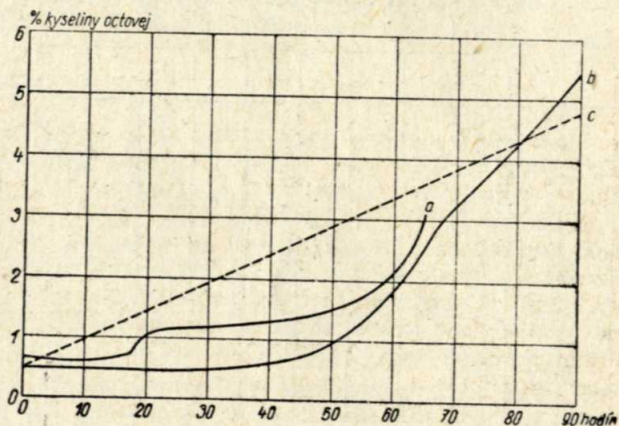
Obr. 3. Rôzne druhy premývačiek, v ktorých možno robiť fermentačné pokusy.

2. Použití Hromatkov spôsob zaoctovania substrátu stružlinou z rýchlooctärenstva a odtiaľ izolovať a identifikovať baktérie, ktoré sú schopné submerzne octiť.

Materiál, z ktorého sme izolovali čisté kultúry boli rôzne druhy naocteneného révového a ovocného vína a taktiež čerstvo odobraté stružliny z rôznych veľkoocotníc na Slovensku. Pri izolácii z naocteneného vína použili sme túto metódu: z mázdrky sme odočkávali baktérie na pevnú pôdu o zložení:

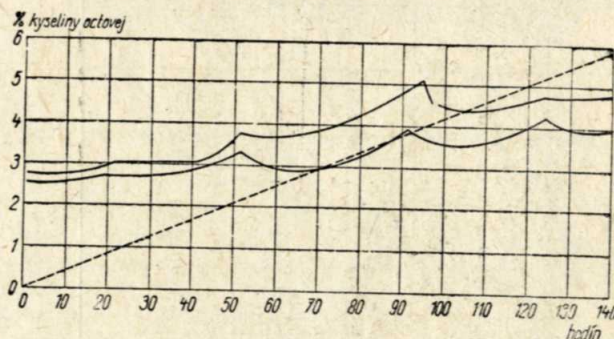
5 % kvasničná voda, 1,5 % agaru, 1,5 % liehu, 1 % glukózy, 2 % kriedy. Izoláciu sme robili Kochovou metódou (9). Z viacerých čistých kultúr pozoruhodný bol *Acetobacter ascendens*, ktorý na tekutom substráte v Erlenmayerovke na víne dosiahol priemerne za 10 dní 7 % kyseliny octovej; submerzne kultivovaný však nechcel rásť. Pri izolácii baktérií zo stružlín narazili sme na problém nájsť vhodnú pevnú pôdu pre izoláciu, pretože niektoré druhy nechceli na bežné známych pôdach rásť. Najlepšia pôda, ktorá sa u nás osvedčila, má toto zloženie: červené víno sa zriedi kvasničnou vodou (9) tak, aby malo 4–5 % alkoholu, pridá sa 0,5 % laktátu

vápenatého a 2 % agaru. Po sterilizácii sa agar naleje do skúmaviek, našikmí a nechá stuhnúť. Potom sa pridá do každej skúmavky pár kvápiek 50 % kys. octovej. Keď vinný agar vsiakol pridanú kyselinu, nechá sa deň stáť a očkuje sa naň.



Graf 1.

U Petriho misiek pridáme kyselinu octovú hneď po sterilizácii ešte do teplého vinného agaru v takom množstve, aby celková koncentrácia kyseliny octovej bola 0,4 % a po zamiešaní sa ihneď nalieva do misiek. Na takejto pôde sme robili izoláciu Kochovou metódou. Izolovaná čistá kultúra z Petriho misiek sa previedla na šikmý agar vinný a keď tam dobre rozrástla, zaliala sa podobným roztokom ako vinný agar (bez agaru). Keď sa objavila nepatrná mázdra, preliat sa obsah 2 alebo viacerých skúmaviek do plynovej premývačky, v ktorej sa už predtým vetrало biele víno (11 % alkoholu, 0,6 % kyseliny ako octová). Pribeh submerznej oxydácie alkoholu sa sledoval kontrolou acidity, redoxpotenciálu, refrakcie a mikroskopicky. Graf č. 1 ukazuje závislosť acidity na čase u submerznej fermentácie čistej kultúry na víne. Ako sa dá z grafu zistiť, rýchlosť oxydácie s časom stúpa a dosahuje niekoľkonásobnú hodnotu, ako rýchlosť u výborne pracujúcej ocotnice Frings. Použitie Hromatkovej me-

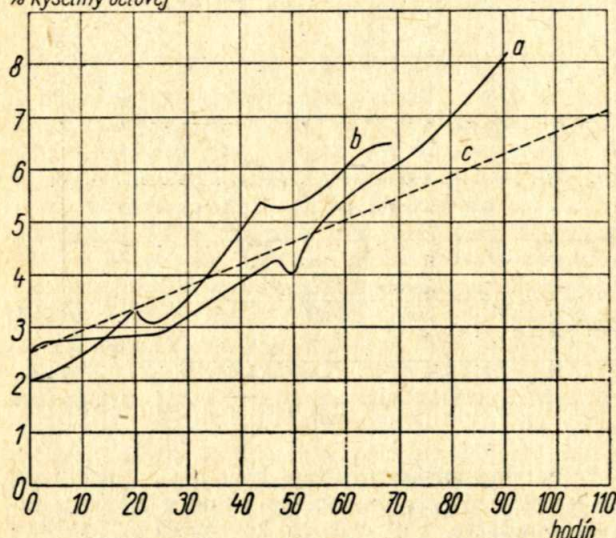


Graf 2.

tódy zaoctenia prebublávacích absorbérov nie je tak jednoduché, ako sa na prvý pohľad zdá. Záleží na spôsobe, akým robíme zaoctovanie a taktiež na substráte, ktorý použijeme na výrobu octu. Ako substrát sme použili pôdu Henneberg I. a pôdu tohto zloženia: 10 % 8° sladinky obohatenej rastovými faktormi, 10 % alkoholu, 0,5 % peptonu, 1 % kyseliny octovej, 0,1 % síranu horečnatého, 0,1 % síranu amonného, 0,15 % sekundárneho fosforečnanu

amonného, 0,5 % síranu zinočnatého. Zbytok destilovaná voda. Graf č. 2 ukazuje závislosť acidity na čase u oboch pôd, ktoré boli dané do plynovej premývačky a prebublávané vzduchom rýchlosťou 0,42 l/min. Zaoctené boli stružinou, ponorenou do vetracieho substrátu na 3 hodiny. Prerývaná priamka

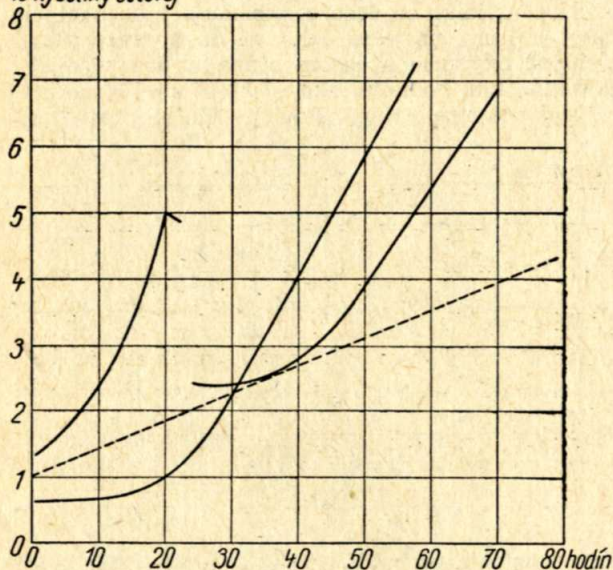
% kyseliny octovej



Graf 3.

na grafe ukazuje závislosť acidity na čase v prípade, že by prebiehala u výborne pracujúceho upútaného kvasenia. Pozoruhodné sú na grafe „zuby“, čo je pravdepodobne spôsobené zmesnou kultúrou. Nepatrný prídavok trieslovín podstatne mení priebeh oxydácie. Graf č. 3 ukazuje závislosť acidity na čase u substrátu s nepatrným prídavkom trieslovín. Ako prirodzený substrát na adaptáciu mikroorganizmov na submerzné kvasenie je víno.

% kyseliny octovej



Graf 4.

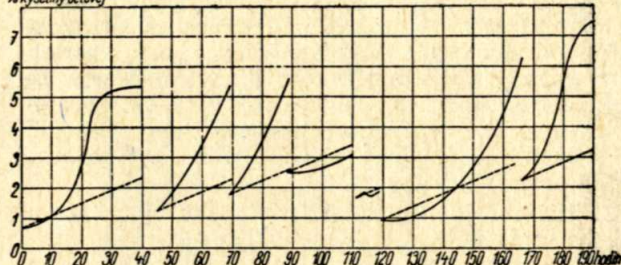
Graf č. 4 ukazuje závislosť acidity na čase u submerznej fermentácie acetobaktérii (zmesnou kultúrou zo stružliny, ktorá bola ponorená do substrátu po dobu 3 hodín). Identifikáciou adoptovanej zmesnej kultúry podľa Frateura (10) sme zistili, že sa jedná o *B. xylinum* a acetobaktér blízky *xy-*

linu. Prerušenie na grafe je spôsobené priliatím čerstvého vína, čím poklesla acidita. Naznačený pokles acidity u vzorky a) je spôsobený preoxydáciou, ktorú spôsobil nedostatok alkoholu.

Ani v jednom pokuse s prídavkom trieslovín sme nepozorovali zanesenie fritu, takže tým odpadá starosť, ktorú naznačil Inž. Thom (11).

Submerzná fermentácia octa v laboratórnych podmienkach ide pomerne ľahko. Časť submerzne vykvaseného octu sa odleje a zbytok sa doplní čerstvým substrátom. Ako sme zistili, nemá takéto pasážovanie vplyv na metabolizmus mikroorganizmov.

% kyseliny octovej



Graf 5.

Veľký vplyv má však tvar nádoby a podmienky vetrania. Graf č. 5 ukazuje priebeh submerznej výroby octa. Pokúsili sme sa pasážovať v rôznych štádiách kvasenie jednotlivých šarží; ako však vidno v grafe, ovplyvnenie metabolizmu nenastalo. Podobné výsledky sme dostali aj v aparátúre o obsahu 22 litrov na prirodzenom a tak isto syntetickom substráte.

Záver

1. Zistilo sa, že upútané kvasenie nie je jediným možným spôsobom výroby octu.
2. Podarilo sa izolovať baktérie, ktoré sú schopné submerzne oxydovať alkohol na kyselinu octovú.
3. Rýchlosť oxydácie u submerzného spôsobu podstatne prevyšuje rýchlosť u najmodernejšieho spôsobu upútaného kvasenie.
4. Manipulácia pri výrobe octu submerzným spôsobom je jednoduchá.
5. Rýchlosť oxydácie závisí na zložení substrátu a podmienkach vetrania.

LITERATÚRA:

1. Košťál Jan Ing.: Submersní octové kvašení, *Průmysl potravin* 4 (1953) č. 11, 471.
2. Hromatka Otto und Heinz Ebner: Untersuchungen über die Essiggärung, *Enzymologia*, Vol. XIII, 6, 369.
3. Hromatka Otto und Heinz Ebner: Untersuchungen über die Essiggärung II, *Enzymologia*, Vol. XIV, (1950) 2, 96.
4. Hromatka Otto und Heinz Ebner: Untersuchungen über die Essiggärung, *Enzymologia* Vol. XV, (1951) 2, 59.
5. Hromatka Otto, Heinz Ebner und Christl Csoklich: Untersuchungen über die Essiggärung, *Enzymologia*, Vol. XV, (1951) 3, 135.
6. Hromatka Otto und Gerhard Kastner: Untersuchungen über die Essiggärung, *Enzymologia*, Vol. XV, (1953) 6, 337.
7. Laskowski H. Inž.: Bilans spirytusu w produkcji octu w aparatach generatorowych, *Przemysł rolny i spożywczy* VIII, (1954), 6, 194.
8. Pavel Nemec Dr.: Základy mikrobiologickej techniky, Slovenská akadémia vied 1954.
9. Anna Kocková-Kratochvílová RNDr.: Praktikum technické mikrobiologie, Praha 1954, Státní nakladatelství technické literatury.
10. Windisch Siegfried: Über neuere Forschung an Essigbakterien, *Die Branntweinwirtschaft*, 76 (1954), č. 18, 363.
11. Thom H. Ing.: Vyhledky na průmyslové využití submersního kvašení při výrobě octa, *Průmysl potravin* 5 (1954), č. 7, 296-297.
12. Ramm V. M.: Absorbční pochody v chemickém průmyslu, Praha 1954, Státní nakladatelství technické literatury.