

O možnosti zvyšování výtěžku lihu v lihovarech

JOSEF DYR, VLADIMÍR KRUMPHANZL, JIŘÍ BARTA

663.52

Na základě laboratorních pokusů, provedených v minulém roce, bylo přistoupeno k provoznímu přezkoušení metody snižování t. zv. zbytkového cukru použitím autolysátů a „plasmolysátů“ ze spodních pivovarských kvasinek. Struktura, pochody a štěpení zbytkových cukrů byly popsány v předešlé práci [1]. V tomto sdělení uveřejňujeme některé výsledky získané při provozních pokusech v jednom našem lihovaru.

V tomto závodě se pracuje celokampaňově nově zavedenou kvasinkou. Ke konci kampaně byl pravidelně dokazován zvýšený obsah zbytkového cukru. Z počátku jsme se domnívali, že nově zavedená kvasinka ztrácí svou aktivitu a že zvýšený obsah zbytkového cukru souvisí s nedostatečným prokvašováním sacharosy. Povahu zbytkových cukrů jsme si proto ověřili chromatograficky. Chromatogramy prokázaly, že zbytkový cukr je tvořen výhradně melibiosou, pocházející ze zvýšeného obsahu rafinosy v melase. Naskytla se tím příležitost ověřit si zmíněné laboratorní výsledky [1] v praxi.

V letošním roce zpracovávaly se v závodě melasy se zvýšeným obsahem rafinosy 0,5 až 1,4 %, k čemuž přispěl i větší podíl melasy z rafinerií. Ve druhé polovině kampaně přicházela do provozu melasa z nádrží, kde poměr rafinérských melas převážoval, což se projevilo zvýšeným obsahem rafinosy. Tím také vzniklo větší množství redukující, lihovarskými kvasinkami nezkvasitelné melibiosy, která způsobila zvýšení zbytkového cukru nad normální hodnotu.

Při provádění pokusů s enzymatickými preparáty se v závodě pracovalo modifikovaným způsobem *Jacqueminovým*. Propagovalo se řezáním obsahu těles, příprava zákvasů normálním klasickým způsobem.

Pokusy prováděné v provozním měřítku lze rozdělit na několik etap:

a) Pokusy s autolysáty z lisovaných pivovarských kvasinek.

b) Pokusy s pivovarskými kvasinkami přidávanými in vivo.

c) Pokusy s „plasmolysáty“ z usazených pivovarských kvasinek.

„Plasmolysáty“ byly připraveny jednak za studena, jednak za zvýšené teploty.

Experimentální část

Rozbor zpracovávaných surovin:

V době pokusů byla zpracovávána melasa z nádrže s průměrným složením:

polarisace	51,80	%
cukr podle Clergeta	50,03	%
rafinosa	0,955	%
invertní cukr	0,420	%

Melasa zpracovávaná v předcházející části kampaně měla průměrné složení:

polarisace	51,40	%
cukr podle Clergeta	50,18	%
rafinosa	0,65	%
invertní cukr	0,55	%

Z rozboru melas je patrný vzrůst obsahu rafinosy, což se projevilo i ve zvýšeném obsahu zbytkového cukru.

a) Pokusy s autolysáty z lisovaných pivovarských kvasinek

Lisované spodní pivovarské kvasinky se sušinou asi 25 % z pivovaru Smíchov byly udusány do nádob a ponechány v kvasné komoře při teplotě 38 °C po dobu 72 hodin. Získaný autolysát byl dávkován podle obsahu kvasných nádob do kvasných nebo předkvasných kádí. Bylo provedeno šest pokusů v normálních kvasných kádích o obsahu 500 hl. Bylo sledováno jednak optimální množství přidávaného autolysátu, jednak optimální doba k dávkování. Aby se získaly srovnatelné hodnoty zejména pokud jde o zbytkové cukry, bylo sledováno šest kádí kontrolních a registrovány dvě další. Sledované kontrolní kádě kvasily souběžně a pokus buď předcházely, nebo následovaly, takže byly připravovány ze stejné melasy, promíchané ve zředěvacích nádržích. Tím byla eliminována event. chyba, která by mohla nastat vrstvením melasy ve velké nádrži. Kvašení bylo vedeno ve všech kádích stejným technologickým postupem. Výsledek obou zkoušek je uveden v tabulce 1.

6. Nebyl pozorován nepříznivý vliv autolysátů na vzrůst infekčních mikrobů a pokusné kádě měly normální konečnou kyselost. Fysiologický stav buněk byl lepší. Autolysátem v množství 35 l lze plnou měrou nahradit fosforečné i dusíkaté živiny.

7. Jakost získávaného etylalkoholu nebyla přídavkem autolysátů ovlivněna.

b) Pokusy s pivovarskými kvasinkami přidávanými in vivo

Spodní pivovarské kvasinky z místního pivovaru byly sebrány z kádí a ponechány sedimentovat v sudech, takže jejich sušina se pohybovala od 13 až 16 %.

Bylo provedeno celkem 8 pokusů s vitálními kvasnicemi v normálních kvasných kádích obsahu 500 hl. Bylo sledováno nejnutnější množství přídávku a nejvhodnější doba k dávkování, t. j. kvasinky se přidávaly buď do předkvasu, nebo při začátku kvašení a v dokvašování v hlavních kádích.

Vedle provedených pokusů bylo sledováno souběžně pět kádí kontrolních, připravovaných ze stejné melasy. Kvašení bylo vedeno u všech kádí stejným technologickým postupem.

Výsledek je uveden v tabulce 2.

Kádě, na něž má vliv přídavek autolysátu

Srovnávací kádě (bez autolysátu)

Doba přídávku autolysátu	Množství autolysátu	Cukr chromat.	Lih v % obj.	Cukr v %	Acidita 1,0 N NaOH/100 ml	Cukr chromat.	Lih v % obj.	Cukr v %	Acidita 1,0 N NaOH/100 ml
Ihned po začátku kvašení, t. j. po první dávce melasy k rozkvasu	50 l	galaktosa	9,48	0,162	2,0	melibiosa melibiosa	9,87 9,79	0,274 0,294	2,4 2,4
Dvě hodiny po doplnění kádě	40 l	galaktosa	10,36	0,220	2,8	melibiosa melibiosa melibiosa	9,70 9,62 10,09	0,352 0,322 0,330	— — —
Jedna hodina po doplnění kádě	35 l	galaktosa	8,61	0,170	2,6	melibiosa	9,28	0,284	2,3
Ihned po doplnění kádě	20 l	galaktosa stopa melibiosy	10,42	0,222	2,7	melibiosa	9,98	0,336	2,9
Ihned po doplnění kádě	10 l	melibiosa	10,48	0,238	2,6	melibiosa	10,25	0,366	—
Ihned při postavení zákvasu	35 l	melibiosa	10,73	0,326	2,3	stejná melasa jako u kádě předěšlé			

Tabulka 1

Z provedených pokusů lze vyvodit tyto závěry:

1. V případě optimálního množství přidávaného autolysátu bylo dokázáno, že lze snížit t. zv. zbytkový cukr (stanoveno mikrometodou) o 0,10 až 0,15 %, t. j. 0,27 a 0,37 % na 0,16 až 0,26 %.

2. Bylo prokázáno postupné štěpení melibiosy a jako jediný cukr zjištěna v prokvašené zápare galaktosa, zatím co u kontrolních kádí zůstávala ve všech případech melibiosa. Tím se plně potvrdily výsledky laboratorních pokusů.

3. Nejnutnější množství přidávaného autolysátu k rozštěpení melibiosy je 20 l (lisovaných kvasinek sušiny asi 25 %) na 500 hl záparů. Přídavek 35 l se zdá optimální a 10 l již nepostačuje.

4. Nejvhodnější doba k přidání autolysátu je v době doplnění kvasné kádě na konečný objem. Čas potřebný k rozštěpení melibiosy je v tomto případě zcela dostatečný. Přidáme-li autolysát již na začátku kvašení, zkracuje se kvasná doba, je dosaženo dříve 4 vol. % alkoholu, ale současně vzrůstá buněčná hmota.

5. Přídavek autolysátu do předkvasu se neosvědčil a zbytkový cukr se později v kádí nesnižoval.

Z provedených pokusů lze vyvodit tyto závěry:

1. Při dávkování 50 až 100 l usazených kvasnic do 500 hl (sušina asi 15 %) jak při začátku kvašení, tak při dokvašování se dosáhlo hlubšího prokvašení (stanoveno mikrometodou) o 0,07 až 0,10 %, což je nižší než při použití autolysátů. Při použití menších množství než 50 l nebyl úbytek zbytkového cukru dost průkazný.

2. Při provedených pokusech nebyla chromatograficky zachycena galaktosa, vznikající štěpením melibiosy, i když nastal znatelný úbytek melibiosy. Tím se tato serie pokusů liší od pokusů dříve prováděných, t. j. za použití autolysátů, kdy galaktosa zůstávala nezkašena. U pokusů, při kterých bylo přidáváno menší množství kvasnic, nebylo chromatograficky pozorováno ubývání melibiosy a tato zůstávala proti kontrolním pokusům stejná.

3. Přidávané kvasinky neměly vliv na rozmnožování infekčních mikrobů.

4. Jakost získávaného lihu nebyla přidávanými kvasnicemi ovlivněna.

5. Přidávané pivovarské kvasinky se v průběhu kvašení podstatně nepomnožovaly.

c) Pokusy s „plasmolysáty“ z usazených pivovarských kvasinek — příprava za studena

Čerstvě sebrané spodní pivovarské kvasinky byly ponechány sedimentovat v dřevěné nádobě. Sušina sedimentu 14,13 %. Po usazení bylo přidáno za stálého míchání 2 kg chloridu draselného na každých 10 l kvasnic a takto připravené kvasinky ponechány při teplotě 20 až 25 °C po dobu nejméně 6 hodin. Mikroskopicky bylo zjištěno, že ani většími přísadky soli nedošlo k typické autolyse. S „plasmolysáty“ připravenými za studena bylo provedeno pět sledovaných pokusů a čtyři pokusy kontrolní. Výsledky čtyř pokusů a dvou kontrolních kádí uvádíme v tabulce 3.

Z provedených pokusů s „plasmolysáty“, které byly připraveny z usazených spodních pivovarských kvasinek působením 20 % chloridu draselného za normální teploty lze činit závěry:

Kádě, na něž má vliv přísadky pivovarských kvasinek in vivo

Doba přidavku pivovarských kvasinek	Množství kvasinek	Cukr chromat.	Lih v % obj.	Cukr v %	Cukr chromat.	Lih v % obj.	Cukr v %
Začátek kvašení	100 l	melibiosa (stopa)	10,14	0,21	melibiosa	9,81	0,290
Začátek kvašení	50 l	melibiosa (stopa)	9,75	0,22	melibiosa	9,70	0,314
Začátek kvašení	20 l	melibiosa	9,70	0,278	melibiosa	9,29	0,280
Začátek kvašení	10 l	melibiosa	9,29	0,308	melibiosa	9,34	0,300
Okamžitě po doplnění kádě	50 l	melibiosa (stopa)	9,87	0,190		9,48	0,308
Okamžitě po doplnění kádě	10 l	melibiosa	9,04	0,268			

Tabulka 2

1. Při přísadkách 40 až 80 l plasmolysátu přidávaného po doplnění kádě lze dosáhnout hlubšího prokvašení zbytkového cukru podobně jako u autolysátů z lisovaných kvasnic, t. j. asi o 0,15 % proti kontrolním pokusům. Přísadka 25 l má znatelně menší účinnost a 15 l se téměř neprojevuje.

2. Štěpení melibiosy bylo stejné jako u pokusů s autolysáty a při optimálních množstvích zůstávala podle chromatogramu jako jediný zbytkový cukr galaktosa, u pokusů s menšími dávkami galaktosa a melibiosa.

3. Vliv přidávaných plasmolysátů na rozmnožování infekčních mikrobu nebyl pozorován.

4. Jakost získávaného lihu nebyla ovlivněna.

5. Fysiologický stav kvasinek se v dokvašení zlepšil a bylo pozorováno, že zůstávají dlouho v suspensi, bez sedimentace.

d) Pokusy s „plasmolysáty“ z usazených pivovarských kvasinek — příprava za tepla

Jako v předešlém případě byly čerstvě sebrané spodní pivovarské kvasinky ponechány sedimentovat. Byly přidány 2 kg chloridu draselného na každých 10 l sedimentu. Připravované kvasinky byly ponechány po dobu 36 hodin za občasného míchání při teplotě 37 až 39 °C. Ani v tomto případě nenastala typická autolysa. S „plasmolysáty“ za tepla připravovanými bylo provedeno 14 pokusů a sledováno 10 kontrolních kádí. „Plasmolysáty“ byly opět přidávány v různé fázi kvašení a byla hledána optimální koncentrace. Výsledky pokusů jsou v tabulce 4.

Z pokusů s „plasmolysáty“ připravenými z usazených spodních pivovarských kvasinek působením 20 % chloridu draselného za teploty 37 až 39 °C (doba 36 hodin) vyplývá:

1. Dosahuje se vcelku stejného efektu jako s „plasmolysáty“ připravenými za studena, t. j. při

optimálních přísadkách lze snížit zbytkový cukr asi o 0,15 %. Minimální přísadka je asi 40 l preparátu, optimální množství je prakticky stejné jako v předešlém případě, t. j. 60 až 80 l.

2. Chromatograficky bylo prokázáno, že štěpením melibiosy při optimálním množství plasmolysátu zůstávala galaktosa jako jediný zbytkový cukr.

3. Vliv přidávaných plasmolysátů neovlivňuje růst infekčních mikroorganismů.

4. Jakost získávaného lihu nebyla přísadky preparátů znatelně ovlivněna.

Výpočet výtěžnosti při použití enzymatických preparátů

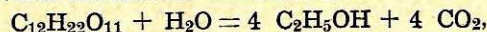
Rafinosa přítomná v melasové zápaře je štěpena kvasničnou sacharásou na fruktosu a melibiosu. Vzniklá fruktosa je zkvašena a v zápaře zůstává melibiosa. Ta je potom působením přidávaného autolysátu obsahujícího melibiosu štěpena na glukosu

Srovnávací kádě

a galaktosu. Uvolněná glukosa je zkvašena kvasinkami úplně, zatím co galaktosa je zkvašována neúplně. Po rozštěpení melibiosy tvoří tedy redukční cukr převážně galaktosa.

a) Teoretická výtěžnost

Podle rovnice zkvašování disacharidů



vyjádřeno v gramech:

$$342,32 \text{ g} + 18 \text{ g} = 184,28 \text{ g} + 150 \text{ g}$$

Přepočteno na obj. % (spec. váha 15/15 °C 0,79425) dostaneme ze 100 g disacharidu, t. j. v našem případě melibiosy 67,78 ml alkoholu. Výtěžek v praxi je ovšem nižší o 8 až 10 %. Tato ztráta souvisí s vlastním růstem mikroorganismů, s tvorbou vedlejších produktů, a s provozními ztrátami.

b) Praktická výtěžnost

Průměrný zbytkový cukr neovlivněné kádě 0,320 g/100 ml, průměrný zbytkový cukr kádě ovlivněné autolysátem (40 l autolysátu na 500 hl zápaře) 0,200 g/100 ml. Rozdíl v zkvasitelném cukru přepočtený na objem 500 hl prokvašené zápaře činí 60 kg. To znamená, že 60 kg cukru navíc může být asimilováno kvasinkami a přeměněno jednak na alkohol, jednak na buněčnou hmotu.

Měli jsme možnost sledovat změnu v obsahu buněčné hmoty jednak analytickými metodami, jednak zvážením veškeré kvasničné hmoty v kádi. Při srovnání s kontrolními káděmi nebyl zaznamenán znatelný rozdíl. Obsah alkoholu se sledoval pouze analytickými metodami, protože nebylo z technických důvodů možné destilovat pokusné kádě odděleně a tak prokázat pomocí lihového měřidla vyšší výtěžnost.

Na základě uvedených poznatků a při použitím technologickém postupu lze počítat s výtěžností 60 %. To znamená, že v jedné kádi získáme 36 l abs. alkoholu. Tento výsledek si můžeme ověřit i přepočtem na rafinosu, obsaženou v použité melase. V průměru obsahovala použitá melasa 0,93 rafinosy ve 100 g melasy.

Kádě, na něž má vliv přídavek „plasmolysátu“ připraveného za studena

Srovnávací kádě

Doba přidání plasmolysátu	Množství plasmolysátu	Cukr chromat.	Lih v % obj.	Cukr %	Acidita	Cukr chromat.	Lih v % obj.	Cukr v %
Po doplnění kádě	80 l	galaktosa (stopy)	—	0,16	—	melibiosa	10,28	0,328
Po doplnění kádě	40 l	galaktosa	10,05	0,17	2,3	—	—	—
Po doplnění kádě	25 l	melibiosa galaktosa (stopa)	10,37	0,23	—	melibiosa	9,87	0,282
Po doplnění kádě	15 l	melibiosa	9,76	0,24	—	—	—	—

Tabulka 3

Při normálním průběhu kvašení se zkvasí 0,31 g rafinosy. Při ovlivněném průběhu kvašení se zkvasí 0,93 g rafinosy, rozdíl je tedy 0,62 g. Na jednu káď přijde průměrně 141,17 g melasy, která celkem obsahuje 131,28 kg rafinosy. Počítáme-li s výtěžností 60procentní získáme u kádě neovlivněné ze zkvašené rafinosy 26,256 l a. a., u kádě ovlivněné ze zkvašené rafinosy 78,768 l a. a. To znamená, že úplným zkvašením melibiosy získáme 52,512 l absolutního alkoholu navíc.

Nám se podařilo získat 36 l absolutního alkoholu. Diference je způsobena neúplným prokvašením vzniklé galaktosy, což je patrné i na chromatografickém záznamu.

Kádě, na něž má vliv přídavek „plasmolysátu“ připraveného za tepla

Srovnávací kádě

Doba přidání plasmolysátu	Množství plasmolysátu v l	Cukr chromat.	Lih v % obj.	Cukr v %	Acidita	Cukr chromat.	Lih v % obj.	Cukr v %	Acidita
Dokvašování	60	galaktosa	9,74	0,190	2,2	melibiosa	10,21	0,346	2,1
Dokvašování	40	galaktosa	9,81	0,201	2,3	nestanoveno	9,98	0,310	2,3
Doplňování	40	galaktosa	11,18	0,254	2,4	melibiosa	10,10	0,298	2,1
Dokvašování	30	melibiosa galaktosa	9,83	0,247	nestanoveno	melibiosa	10,03	0,318	2,0
Dokvašování	30	nestanoveno	10,44	0,254	2,3	melibiosa	10,28	0,350	2,4
Doplňování	30	melibiosa galaktosa	10,41	0,250	2,4	melibiosa	9,54	0,340	nestanoveno
Dokvašování	25	melibiosa galaktosa	9,29	0,190	2,4	melibiosa	9,95	0,254	2,3
Dokvašování	15	melibiosa	10,44	0,282	2,2	melibiosa	9,79	0,324	2,3
Dokvašování	15	melibiosa	9,84	0,300	2,1	melibiosa	10,02	0,315	2,2
Doplňování	15	nestanoveno	10,19	0,275	nestanoveno	nestanoveno	9,93	0,301	2,3
Dokvašování	10	melibiosa	nestanoveno	0,248	nestanoveno	melibiosa	9,57	0,292	nestanoveno
Doplňování	10	nestanoveno	10,05	0,200	2,3	melibiosa	10,11	0,280	2,2

Tabulka 4

Je zajímavé srovnat námi získané výsledky z provozních pokusů s výsledky, které uvedl *prof. Jörgensen* [2] na IX. mezinárodním kongresu zemědělského průmyslu v Římě.

Údaje	Zvýšení výtěžnosti lihu ze 100 kg melasy v l a. a.
Prof. Jörgensen	0,380 l
Výtěžek dosažitelný při zpracovávání melase	0,371 l
Získaný praktický výtěžek	0,255 l

Závěr

Úkolem práce bylo zvýšit výtěžnost lihu z melasy převedením t. zv. nezkvasitelných — zbytkových cukrů na zkvasitelné. V provedených pokusech byla zkoušena různá příprava enzymatických preparátů ze spodních pivovarských kvasinek. Bylo sledováno

optimální množství preparátu potřebné k rozštěpení melibiosy, vhodná doba k přidání a celkový vliv na průběh kvašení.

Z uvedených výsledků vyplynulo:

1. K dosažení snížení zbytkového cukru je třeba použít 20 až 35 l autolysátu připraveného teplem z lisovaných pivovarských kvasnic (sušina asi 25 %) nebo 50 až 60 l plasmolysátu připraveného za tepla nebo za normální teploty z usazených kvasnic (sušina asi 14 %). Potřebné množství enzymatického preparátu je závislé na použité pivovarské kvasničné rase (různý obsah melibiosy), na obsahu rafinosy v melase a na vhodné přípravě preparátu. K dosažení

stejněho účinku je třeba podstatně větší množství kvasinek ve vitálním stavu.

2. Nejvhodnější doba k přidávání preparátu při *Jacqueminově* způsobu kvašení je při doplňování kádě nebo krátce před jejím doplněním, při způsobu *Boinotově* doba, kdy v kádi je natvoreno více než 5 % ethylalkoholu, t. j. asi 5 až 6 hodin po začátku plnění kádě. Při přidavcích na začátku kvašení je nebezpečí nadměrného vzrůstu buněčné hmoty. Přídavek autolysátu do zákvasu se na množství zbytkového cukru neprojevil, lze však jím nahradit dusíkaté i fosforečné živiny a i na fyziologický stav kvasinek má příznivý vliv.

3. Zbytkový cukr se snižuje o 0,10 až 0,15 % (stanoveno mikrometodou) a snížení je závislé na množství přidaného preparátu a ostatních dříve uvedených faktorech. Chromatograficky bylo zaznamenáno štěpení melibiosy a vzrůst galaktosy, která zůstává jako jediný zbytkový cukr částečně nepro-kvašena. Tím se potvrdily výsledky laboratorních pokusů.

4. Rozmnožování infekčních mikrobů se přidavky autolysátů nepodporuje.

5. Jakost lihu je neovlivněna.

6. Podle uvedeného výpočtu lze ze stejného množství melasy obsahu 0,93 % rafinosy vyrobit z 1000 q o 371 l a. a. navíc; prakticky bylo dosaženo 255 l. Při kampaňovém zpracování 100 000 q melasy v jednom lihovaru to činí 25 000 l a. a.

Vyřešení otázky snížení t. zv. zbytkového cukru prokvašením melibiosy nám dává možnost prakticky zasáhnout ve směru zvýšení výtěžnosti lihu zvláště u ročníků nebo partií melas se zvýšeným obsahem rafinosy.

Je výhodou, že lze použít odpadních pivovarských kvasinek jak lisovaných, tak i usazených, jejichž cena je prakticky dovozní. V případě mimořádných ročníků melas (vysoký obsah rafinosy) lze v každém lihovaru připravit vlastní spodní pivovarské kvasinky, není-li v blízkosti závodu pivovar.

Literatura

- [1] J. Dyr, Vl. Krumphanzl: O možnosti zvyšování výtěžku alkoholu v lihovarech zpracovávajících melasu. Kvasný průmysl 1 (1955), č. 8, 181.
- [2] Jørgensen: Industrie agricoles et alimentaires 1953.