

# K otázce ztrát a závad lihového kvašení melasy zaviněných kontaminací

JIRÍ BARTA, Spojené lihovary, n. p., Praha  
OLDŘICH ŽVÁČEK, Vinařský ústav, Praha.

664.15:663.5

Je obecně známo, že kontaminace při lihovém zkvašování melasy způsobuje nejen závady v technologickém postupu kvašení, ale vyvolává také značné ztráty na výtěžnosti lihu.

Při výzkumech kontaminace jsme se zabývali bližším rozбором uvedených závad. Jak jsme zjistili a publikovali [1, 2, 3], uplatňují se jako kontaminace při lihovém zkvašování melasových zápar bakterie rodu *Lactobacillus*. Při periodickém kvašení zjišťujeme nejčastěji druhy ze skupiny heterofermentativní (*L. Buchneri*, *brevi*s, *vermiformis*), při procesech kontinuálních i typy homofermentativní (*L. plantarum*). Výskyt uvedených bakterií vyvolává pak tyto závady:

1. ztráty cukru, a tím snížení výtěžnosti etylalkoholu,
2. závady v technologickém kvasném postupu,
3. zvýšenou korosi používaného zařízení.

## Ztráty cukru a snížení výtěžnosti etylalkoholu

Kontaminující heterofermentativní *Lactobacilly* vytvářejí ze sacharidů jako hlavní metabolity kyselinu

mléčnou, octovou, kysličník uhličitý a malá množství etylalkoholu. Homofermentativní *Lactobacilly* výhradně kyselinu mléčnou. Až dosud byly v kvasném procesu sledovány a vyjadřovány ztráty cukru přírůstkem acidity. Acidita byla stanovována 1,0 N nebo 0,1 N-NaOH na lakmus a vyjadřována na 100 ml zápary. Ztráty se přepočítávaly na kyselinu octovou vzniklou z alkoholu, což uvádí nejen *Vílikovský* [4], ale i řada pozdějších autorů. Také v melasových lihovarech se takto ztráty dodnes vypočítávají. Uvedený výpočet předpokládá ovšem přítomnost a činnost octových bakterií, např. rodu *Acetobacter*. Bakterie rodu *Acetobacter* se však při aplikaci dnešních technologických postupů nevyskytují a také nám se je nepodařilo nikdy zjistit. Je-li zaznamenán jejich výskyt, nebyl pochod normální, např. prokvašená zápara dlouhou dobu stála za přístupu vzduchu, bylo pracováno v otevřených kádích atd.

Uvedené vývody vedou proto k závěrům, že ztráty zjišťované z acidity nutno přepočítávat na kyselinu mléčnou, CO<sub>2</sub> z cukru podle biochemismu kontaminace.



Proto jsme sestavili tabulky pro nový výpočet ztrát etylalkoholu při výskytu bakterií rodu *Lactobacillus*, a to jak typů homofermentativních (tabul-

Tabulka 1

Výpočet ztrát etylalkoholu způsobený kontaminací heterofermentativními bakteriemi

Přír. stek acidit v ml 1,0 N NaOH	g C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> g C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> g CO <sub>2</sub> +H <sub>2</sub>	ml C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH teoreticky na 100 ml	ml C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH prakticky na 1 l	l C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH prakticky na 100 hl
1	0,05994 0,02004 0,03043	0,058	0,56	56
2		0,116	1,12	112
3		0,174	1,68	168
4		0,232	2,24	224
5		0,290	2,80	280
6		0,348	3,36	336
7		0,406	3,92	392
8		0,464	4,48	448
9		0,522	5,04	504
10		0,580	5,6	560

Při výpočtu ztrát z acidity je třeba uvažovat vždy přirozený vzestup acidity, způsobený vznikajícími produkty (organické kyseliny) při lihovém kvašení, při dobré práci (bez infekce) činí tento přírůstek asi 1 ml 1,0 N-NaOH/100 ml.

Tabulka 2

Výpočet ztrát etylalkoholu způsobený kontaminací homofermentativními bakteriemi

Přír. stek acidit v ml 1,0 N NaOH/ 100 ml	g C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	ml C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH teoreticky na 100 ml	ml C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH prakticky na 1 l	l C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH prakticky na 1000 hl
1	0,09	0,055	0,53	53
2	0,18	0,110	1,06	106
3	0,27	0,165	1,59	159
4	0,36	0,220	2,12	212
5	0,45	0,275	2,65	265
6	0,54	0,330	3,18	318
7	0,63	0,385	3,71	371
8	0,72	0,440	4,24	424
9	0,81	0,495	4,77	477
10	0,90	0,550	5,30	530

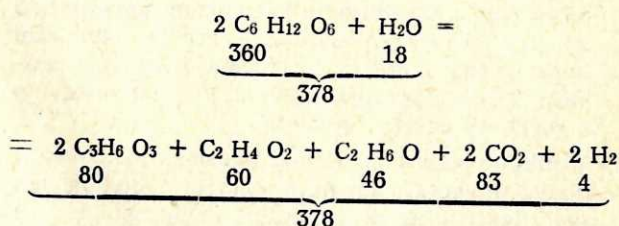
Přepočet na alkohol podle usančního hodnocení (Vilikovský 1924)

100 g	glukosy . . . . .	51,137 g alk.	64,43 ml
5 %	teoretických ztrát (vedlejší produkty) . .	48,580 g alk.	61,21 ml
3,5 %	praktických ztrát (těkání alkoholu, zbytkový cukr, destilační ztráty atd.) .	46,791 g alk.	59,07 ml

ka 1), tak heterofermentativních (tabulka 2). V praxi je nutno vyjádřit ztráty podle biochemismu heterofermentativních bakterií, protože pouze homofermentativní kontaminace se samotná nikdy nevyskytne. Praktický rozdíl mezi ztrátami způsobenými oběma skupinami *Lactobacillů* je nepatrný. Velmi přesné stanovení ztrát by mělo být provedeno podle mikrobiologického rozboru, a to podle poměrného zastoupení homofermentativních a heterofermentativních typů.

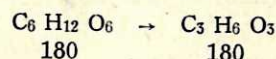
Výpočty uvedené v tabulkách byly vztaženy na glukosu a nikoli sacharosu, protože jak bylo chromatograficky zjištěno, je všemi typy kontaminujících *Lactobacillů* vždy preferována glukosa a fruktosa. Jak známo, je glukosy i fruktosy v kvasicích melasových záparách nadbytek, neboť inverze sacharosy kvasinkami probíhá velmi rychle.

Jeden z předpokladů je, že mléčné kvašení heterofermentativních druhů probíhá podle rovnice:



Zatím se nám nepodařilo v literatuře najít uspokojivější rovnici pro bakterie vytvářející kyselinu mléčnou, octovou, kysličník uhličitý a stopy etylalkoholu. V literatuře se běžně uvádí z plynných složek pouze vznik CO<sub>2</sub>, ale jak zjišťuje Fjodorov [5], vzniká při heterofermentativním kvašení i vodík. Tvorba vodíku v kulturách, se kterými jsme pracovali a sledovali jako kontaminaci, není vyloučena. Při kvasných zkouškách byl zachycován vznikající kysličník uhličitý v koncentrovaném louhu a přitom byla zjištěna malá množství zbytkového plynu. Tento plyn sice identifikován nebyl, ale pravděpodobně šlo o vodík. Vznikajícího vodíku se ovšem užívá jako redukčního agens pro meziprodukty kvašení. I když však předpokládáme variabilní množství vznikajícího vodíku, není možno rovnici uspokojivě sestavit. Tabulka 2 sestavená pro homofermentativní kontaminaci je odvozená z teoretických předpokladů, ale výpočet ztrát je v každém případě přesnější, než při dosud používaném způsobu. Pro sestavení velmi přesné a definitivní tabulky bude nutné prověřit biochemismus kontaminujících bakterií se zřetelem k prostředí, tj. kvasicím melasovým záparám. Přitom bude třeba přesně znát poměry, zejména konečných produktů.

Pro bakterie homofermentativní (ztráty jimi způsobené uvádíme v tabulce 1) platí rovnice:



Zde je již vztah jednodušší i když někteří autoři, např. Šapošnikov [6] se zmiňují právě u *L. plantarum* o vzniku velmi malých množství kyseliny octové.



## Závady v technologickém kvasném postupu

Narušování technologického kvasného postupu nastává hlavně z těchto příčin:

- Doba kvašení se prodlužuje, až se i v některých případech zcela zastaví, neboť kontaminující bakterie mají nepříznivý vliv na fyziologický stav kvasinek. Při silné nebo spontánní infekci je zvýšená úmrtnost buněk. Kyselina mléčná, vytvářená bakteriemi, není sice kvasinkám škodlivá, ale spoluprodukována kyselina octová leptá a zeslabuje buněčné blány kvasinek, takže se snadněji plasmolysují. Ve studiích, kdy se kontaminující bakterie vyskytují jednotlivě nebo v mezích (poměr ke kvasinkám 1:50 až 20), lze pozorovat zdánlivě zrychlení kvasného procesu způsobené malým množstvím kyseliny mléčné; kyseliny octové je ještě velmi málo, a proto působí příznivě. Dále také rychlejší odkvašováním glukosy a fruktosy. V případech, kdy infekce značněji zesílí a dosahuje ke kvasinkám poměru 1:3 až 1:1 (i více), pozorujeme rychlé odumírání kvasničných buněk a zvolňování kvasného procesu. V některých případech se kvašení zastavuje a zbytkový cukr je vysoký.
- Vznikají obtíže při separaci kvasinek při způsobu podle Boinota, zaviněné silným shlukováním (aglutinací) buněk. Aglutinaci působí hlavně *L. buchneri* a *L. vermiformis* vytvářející značná množství bakteriálních slizů. Bakterie oblépí shlukující se kvasinky a využívají při jejich plasmolyse uvolňovaných růstových látek. V takových shlucích kvasinek po 20 i 60 buňkách jsou přítomni jak živí, tak i mrtví jedinci. Při odstraňování nenastává oddělování specificky lehčích mrtvých buněk a bakterií do záparů, ale vše prochází se shluky do kvasničného mléka. Sladká zápara, zakvašená takovým mlékem, podléhá velmi rychle kontaminaci, neboť kyselá lázeň nepůsobí tak silně baktericidně a přínos odumřelých buněk znamená větší množství růstových látek pro kontaminaci. Při velmi silné aglutinaci se ke kvasničným buňkám shlukovaly i nečistoty z melasy a bylo dokonce pozorováno ucpávání trysek odstředivky.

## Vliv na korozi používaného materiálu

Až dosud bylo vlivu mikroorganismů, resp. jejich metabolitů na používaný materiál, např. kvasné kádě, potrubí, destilační přístroje, odparky atd., věnována velmi malá pozornost našeho výzkumu. Při kontaminaci kvasnicích zápar dřívě zmíněnými „divokými“ mléčnými bakteriemi, kdy vzniká kromě kyseliny mléčné i kyselina octová, nastává bezesporu větší koroze železných kádí i potrubí. Také na destilačním zařízení a odparce lze předpokládat mnohem větší koroze.

## Závěr

Kontaminující bakterie melasových lihových zápar náleží k rodu *Lactobacillus* a způsobují ztráty a závady v provozu lihovaru. Ztráty, jejichž ukazatelem

je vzestup acidity udávané v ml 1,0 N-NaOH na 100 ml záparů, nutno vyjadřovat podle biochemismu mléčných bakterií. Není správné počítat ztráty na kyselinu octovou vzniklou z etylalkoholu. Přesnější je počítat na kyselinu mléčnou, octovou a kyslíčník uhličitý nebo samotnou kyselinu mléčnou.

Kontaminující bakterie zavinují závady v technologickém postupu, neboť jsou příčinou aglutinace a zhoršení fyziologický stav kvasinek, které rychleji odumírají. Při zvýšené infekci lze předpokládat zvýšenou korozi používaného materiálu kvasných kádí, potrubí, destilačního zařízení a odparky.

## Резюме

Бактерии заражающие мелассовые спиртовые заторы и принадлежащие преимущественно к семейству *Lactobacillus* являются причиной помех и значительных потерь при производстве спирта. Потери, показателем которых считается повышение кислотности выражаемое в миллилитрах 1,0 N - NaOH на 100 мл затора следует определять в зависимости от биохимизма бактерий молочнокислого брожения. Нельзя считать правильным выражение потерь при помощи уксусной кислоты возникающей из этилового спирта. В качестве базы для определения следует брать молочную кислоту, уксусную кислоту и углекислый газ или только молочную кислоту. Заражающие бактерии вызывают затруднения в технологическом процессе, так как они являются причиной агглютинации и ухудшения физиологического состояния дрожжей, которые быстро гибнут. При значительной инфекции наблюдается повышенная коррозия материала чанов, трубопроводов, де-стиллирующих аппаратов и выпарок.

## Summary

Bacteria belonging to the *Lactobacillus* familia which contaminate molasses mash in distilleries cause serious difficulties and losses of spirit. The losses, the rate of which is indicated by the increase of acidity expressed in ml of 1,0 N-NaOH in 100 ml of mash, should be determined upon the base of biochemical condition of present lactic fermentation bacteria. It is not correct to express the losses in units of acetic acid arising from ethyl alcohol. Either lactic acid alone or lactic acid, acetic acid and carbon dioxide together should be taken as a base.

Contaminating bacteria disturb technological processes causing agglutination and deteriorating the physiological conditions of yeast which die prematurely. Total infection may result in higher corrosion of fermenting tanks, pipelines, distilling installations and evaporating units.

## Literatura

- ZVÁČEK O., BARTA J.: Kvasný průmysl 3 (1957) 2
- ZVÁČEK O., BARTA J., VINTIKA J.: Čs. Mikrobiologie 2 (1957) 5
- ZVÁČEK O., BARTA J., VINTIKA J.: Sborník VÚKP: Věda, výzkumy a praxe v potravinářském průmyslu 1958
- VILIKOVSKÝ V.: Zemědělská technologie, Praha 1947
- FJODOROV M. V.: Příručka praktické mikrobiologie, Praha 1953
- ŠAPOŠNIKOV V. N.: Technická mikrobiologie, Praha 1953

V nejbližší době vyjde „Bibliografie československé potravinářské literatury 1945–1957“, která obsahuje 490 záznamů českých a 50 záznamů o slovenských knihách z potravinářského oboru. U většiny knih jsou uvedeny kromě bibliografických záznamů i stručné výtahy, které informují o obsahu a zaměření knihy.

Publikace bude mít rozsah asi 150 stran a jeden výtisk bude stát Kčs 12,—.

Objednávky vyřizuje Středisko technických informací potravinářského průmyslu a výkupu, Praha II, nám. M. Gorkého 31.