

Dôkaz skvasiteľnosti diagnostických cukrov chromatograficky

ERICH MINÁRIK, LADISLAV LAHO, ANTON NAVARA, — Výskumný ústav pre vinohradníctvo a vinárstvo,
Bratislava

664.1 + 577.15 : 545.844

Pri identifikácii kvasiniek má veľký význam skúška skvasiteľnosti diagnostických cukrov. V laboratórnej rutínnej technike je zaužívaná jednoduchá a nenáročná kvasná skúška v niektorej z početných modifikácií plynoviek, najčastejšie *Durhamových*. Kvasenie substrátu sa sleduje vizuálne podľa bubliniek CO₂ uvoľňujúceho sa počas kvasenia. Táto uzančná metóda má popri svojej jednoduchosti a vhodnosti k sériovej práci aj niekoľko vážnejších nedostatkov, ktoré možno zhrnúť takto:

1. Kvasenie cukru možno ľahko prehliadnúť u kvasiniek, ktoré vyžadujú dlhšiu adaptáciu na cukor, alebo ktoré príslušný cukor skvasujú pozvoľna alebo nedokonale. To sa vyskytuje niekedy najmä pri kvasení galaktózy.

2. Pri kvasení rafinózy nemožno priamo usudzovať na hĺbku fermentatívneho odbúrania trisacharidu ($\frac{1}{3}$, $\frac{2}{3}$ alebo úplné skvasenie). Pri kvasení rafinózy do $\frac{1}{3}$ (v substráte zostáva melibióza) býva vývin CO₂ slabší, často len v prvých 24 až 48 hodinách, a niekedy tak uniká pozornosti.

3. Nie je možné časove sledovať priebeh odkvasovania cukrov.

4. U kvasiniek neskvášajúcich cukry možno určiť, či niektorý cukor nie je asimilovaný alebo enzymaticky rozštiepený.

Vychádzajúc z týchto ťažkostí pri kvasných skúškach v Durhamových i iných plynovkách, vypracovali sme jednoduchú a prístupnú metódu analýzy kvasného substrátu z plynoviek papierovou chromatografiou.

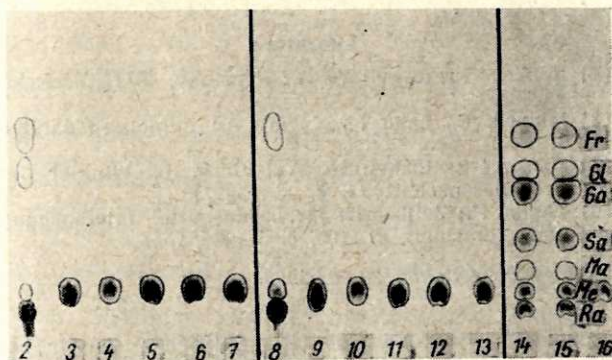
Postup pri chromatografickom stanovení skvasiteľnosti cukrov.

Durhamové plynovky sa plnia 10 ml kvasničnej vody obsahujúcej 2 % cukru. Pritom možno postupovať tak, že sa do každej plynovky dózuje buď len jeden skúšaný cukor ako obvykle, alebo zmes všetkých cukrov v rovnakom pomere tak, aby ich celková koncentrácia bola opäť 2 %. U vínnych kvasiniek používame tieto cukry: glukózu, sacharózu, maltózu, galaktózu a rafinózu. Laktózu skúšame len vo výnimočných prípadoch.

Po pridaní cukru alebo zmesi cukrov sa plynovky sterilizujú v pare a po vychladnutí sa očkujú 2 kvapkami trojdňovej kultúry skúšaných kvasiniek. Inkubujú sa pri 25 °C v termostate. Kvasenie sa sleduje vizuálne 10–15 dní, v prípade potreby 3 týždne, a výsledky sa zaznamenávajú. Pri kvasení zmesi cukrov sa zaznamenáva výsledok kvasnej skúšky len globálne ako pozitívny alebo negatívny. Tu teda len zistíme, či kvasinky patria k niektorému z kvasných typov, alebo či cukry fermentatívne neodbúrajú (1). Pri kvasení jednotlivých cukrov sa postupuje ako pri obvyklom klasickom spôsobe vizuálneho sledovania kvasenia v plynovkách. V oboch prípadoch sa po 15 dňoch od zaočkovania pristupuje k chromatografickej analýze substrátu. Možno však postupovať aj tak, že sa celý priebeh kvasenia sleduje chromatograficky. V tom prípade sa kvasný substrát nanáša periodicky od začiatku kvasenia v určitých, najčastejšie 24 až 48hodinových intervaloch.

Substrát sa nanáša na chromatografický papier Whatman 1, ktorý pri zostupnom vyvíjaní chromatogramov najlepšie vyhovuje. Na nanášenie sa osvedčujú prispôbené teplomerové kapiláry kalibrované po 0,01 ml (2). Množstvo nanášaných jednotlivých cukrov má byť 150–200 µg, pričom priemer štartu vzorky nemá byť väčší ako 0,4–0,5 cm. Lúnia štartu sa rozdeľ tak, aby sa na šírku papiera mohlo naniesť asi 15 vzoriek, okrem 2 štandardných roztokov cukrov. Tieto roztoky obsahujú, okrem spomenutých cukrov, aj melibiózu. Štandardné roztoky cukrov sa pripravujú v 1% koncentrácii v 50% etanole; nanáša sa vždy 0,01 ml roztoku každého cukru (= 100 µg).

Ako rozpúšťadlovú sústavu možno voliť bežnú zmes butanol – kyselina octová – voda (4:1:5). Chromatogramy sa vyvíjajú spôsobom na „pretečenie“ najmenej 4krát za sebou, zvyčajne však 5krát. Na vzduchu vysušené chromatogramy sa detekujú v zmesi 5 dielov 2% difenylaminu v etanole, 5 dielov 2% anilínu v etanole a 1 dielu 85% kyseliny fosforečnej (3). Po vysušení na vzduchu sa chromatogramy vkladajú asi na 20 min do teplovzdušnej sušiarne pri 80 °C.

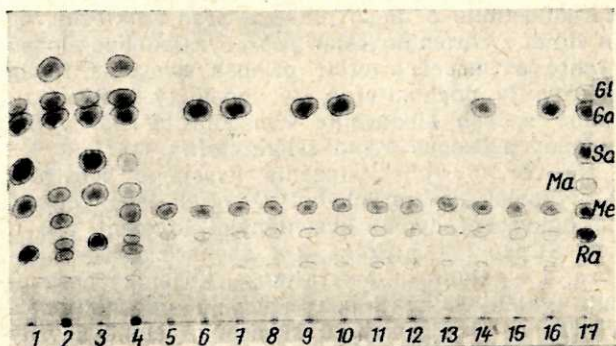


Obr. 1

Výsledky a ich zhodnotenie

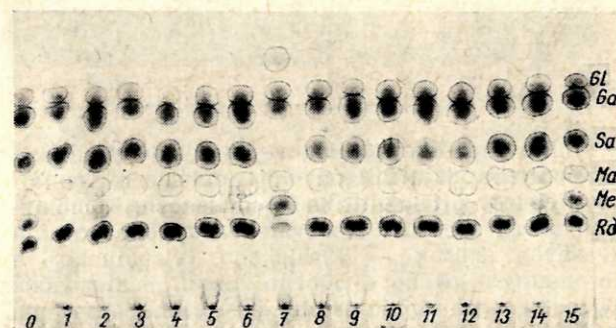
Na chromatograme (obr. 1) vidieť časový priebeh kvasenia rafinózy kvasinkami *Sacch. oviformis* (2-7) a *Sacch. vini* (8-13). Označenie 14-16 sú štandardy. Škvŕna glukózy a fruktózy v deň inokulácie (označ. 2, resp. 8) pochádza zo substrátu – hroznového muštu, ktorý sa pri očkovaní dostal do

kvasničnej vody s kvasničnou suspenziou. Vidieť, ako citlivo sa zaznamenávajú na chromatograme i najmenšie množstvá cukrov. Substrát sa nanášal v 48hodinových intervaloch. V oboch prípadoch, u *Sacch. oviformis* i *Sacch. vini* je rafinóza po 48 hodinách skvasená do 1/3, čo vidieť zo škvŕny melibiózy a chýbajúcej škvŕny rafinózy.



Obr. 2

Kvasenie zmesi cukrov rôznymi druhmi kvasiniek vidieť na chromatograme (obr. 2). Každý stĺpec (1-16) reprezentuje určitý kvasničný kmeň. Napr. v stĺpci 1 možno zistiť, že kvasinky neskvášili ani jeden z cukrov. Škvŕna fruktózy pochádza



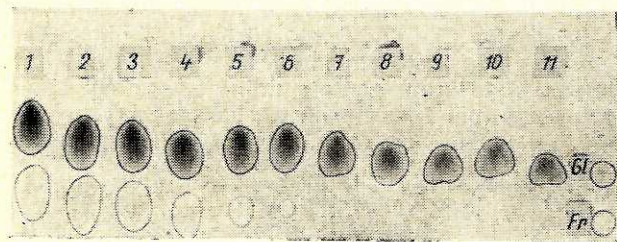
Obr. 3

z hroznového muštu. V stĺpci 2 možno pozorovať, že došlo k štiepeniu sacharózy a rafinózy, čo možno vidieť zo vzniku škvŕny fruktózy a melibiózy a zosilnenej škvŕny glukózy. Dve škvŕny, z ktorých jedna má R_f približne rovnaké ako rafinóza a druhá ležiaca bližšie k štartu, prislúchajú oligocukrom, pravdepodobne maltotrióze a maltotetraóze (4). Identifikáciou týchto cukrov sa budeme zaoberať v inej práci. Tieto škvŕny vystupujúce takmer vždy pri analýze substrátu obsahujúceho maltózu, možno pri detekcii rozlíšiť farebne od škvŕny rafinózy i ostatných diagnostických cukrov, pretože svojou fialovou až modrou farbou sú veľmi blízke farbe maltózy. Pri vyhodnocovaní chromatogramov preto neruší. V stĺpcoch 5, 8, 11–13 a 15 sú všetky cukry skvasené, rafinóza do 1/3. V stĺpcoch 6, 7, 9, 10, 14 a 16 nie je skvasená galaktóza. Stĺpec 17 predstavuje štandardné roztoky cukrov.

Na chromatograme (obr. 3) je hneď zjavné, že kvasinky neskvášajú ani jeden cukor (stĺpec 1–6, 8–14). V stĺpci 7 vidieť, že tu došlo opäť k štiepeniu sacharózy a rafinózy. Označenia 0 a 15 štandardné roztoky cukrov.

Priebeh kvasenia hroznového muštu, ktorého skvasiteľné cukry pozostávajú prakticky z glukózy a fruktózy [invertného cukru], je rôzny, podľa toho, aký druh kvasiniek bol pri inokulácii muštu volený. *Sacch. acidificiens* skvasuje napr. v prvých dňoch kvasenia selektívne fruktózu (obr. 4). Glukóza je skvasovaná len neskôr, čo na chromatograme nie je vidieť. Naopak, *Torulaspora rosei* uprednostňuje o niečo glukózu pred fruktózou, čo je vidieť z chromatogramu (obr. 5). Obdobne možno rýchle a bezpečne určiť priebeh kvasenia iných cukrov. Je pochopiteľné, že chemický alebo fyzikálny spôsob sledovania kvasenia by bol veľmi obťažný a časove ťažko zvládnuteľný.

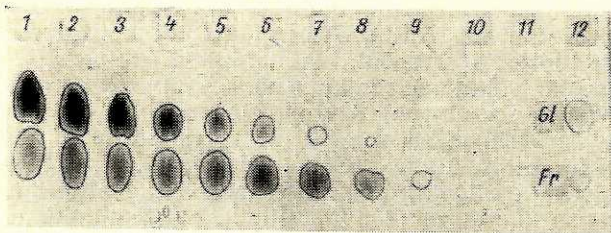
Na obr. 6 vidieť zloženie kvasného substrátu z plynoviek, v ktorých bol vždy len jeden cukor, po dokvasení dvomi kvasničnými kmeňmi 1/B a 1/C. Stĺpec 1 = glukóza, 2 = sacharóza, 3 = maltóza, 4 = galaktóza, 5 = rafinóza. Kvasinky nesvasujú galaktózu, rafinózu skvasujú na melibiózu. Všetky ostatné cukry sú skvasené. Jemné škvrny v stĺpcoch 3 reprezentujú opäť neskvasiteľné oligocukry z maltózy.



Obr. 4

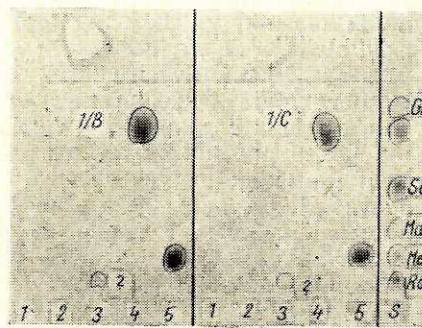
Týchto niekoľko príkladov potvrdzuje prednosť chromatografickej metódy pri dôkaze skvasiteľnosti cukrov pri identifikačných testoch. Kombináciou oboch spôsobov sledovania a vyhodnocovania kvasných skúšok — klasického (vizuálneho) a chromatografického — možno zaručiť jednoznačné výsledky, teda úplnú istotu, čo značne spresňuje a usnadňuje identifikáciu kvasničných kultúr [2].

Prednosť metódy kvasenia jednotlivých cukrov



Obr. 5

vidíme v tom, že vyhodnotenie chromatogramov je veľmi rýchle a že sa umožňuje súčasne vizuálne sledovanie kvasenia v plynovkách. Nevýhodou je väčšia spotreba materiálu, najmä chromatografického papiera a butanolu, a tiež väčšia časová náročnosť. Na jednom chromatograme možno pri použití tejto metódy vyhodnotiť len 3 kultúry.



Obr. 6

Prednosťou metódy kvasenia zmesi cukrov je možnosť vyhodnotiť 14–16 kvasničných kmeňov na jednom chromatograme. Nevýhodou sa zdá byť okolnosť, že pri predchádzajúcom vizuálnom sledovaní kvasenia v plynovkách sa umožňuje len hrubé zadelenie kvasiniek ku kvasným alebo nekvasným typom.

Podľa našich doterajších skúseností získaných pri identifikácii niekoľkých sto kvasničných kmeňov, možno chromatografickú metódu dôkazu skvasiteľnosti diagnostických cukrov doporučiť pri kvasných skúškach pre jej objektivnosť, jednoduchosť a reprodukovateľnosť.

Súhrn

Bola vypracovaná a vyskúšaná chromatografická metóda na dôkaz skvasiteľnosti diagnostických cukrov pri identifikácii kvasiniek, umožňujúca objektívne posudzovať výsledky kvasných testov. Pomocou tejto metódy je možné pohodlne sledovať aj časový priebeh kvasenia. Pre jednoduchosť práce a reprodukovateľnosť výsledkov možno chromatografickú metódu doporučiť pre dôkaz skvasiteľnosti cukrov kvasinkami.

Literatura

- [1] Kocková-Kratochvílová A.: Kvasinky, SVTL Bratislava 1957
- [2] Minárik E., Laho L., Navara A.: Poľnohospodárstvo 1, 1959
- [3] Kocková-Kratochvílová A., Vlček J., Winkler R.: Brauwissenschaft 11, č. 11 (1957)
- [4] Thaler H.: Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung sv. 100, č. 5 (1955)

Došlo do redakcie 22. 8. 1959.

ПРИМЕНЕНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА СБРАЖИВАЕМОСТИ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ САХАРОВ

Был разработан и испытан хроматографический метод дающий доказательство сбраживаемости диагностических сахаров, нужное при идентификации дрожжей. Метод дает возможность оценивать объективно результаты проб на сбраживание. Кроме того дает этот метод возможность наблюдать за ходом брожения. Благодаря

несложности анализа и воспроизводимости результатов можно хроматографический метод рекомендовать для применения на практике при доказательстве сбраживаемости сахаров дрожжами.

CHROMATOGRAPHISCHER BEWEIS DER VERGÄRBARKEIT DER DIAGNOSTISCHEN ZUCKER

Es wurde eine chromatographische Methode zum Beweis der Vergärbarkeit

der diagnostischen Zucker bei der Hefenidentifikation ausgearbeitet und erprobt, welche eine objektive Beurteilung der Ergebnisse von Gärtesten ermöglicht. Mit Hilfe dieser Methode kann bequem auch der Zeitverlauf der Gärung verfolgt werden. Die Methode ist einfach und ihre Ergebnisse reproduzierbar; deshalb wird die chromatographische Methode für den Beweis der Vergärbarkeit der Zucker durch Hefen empfohlen.

APPLICATION OF CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR DETERMINATION OF FERMENTABILITY OF DIAGNOSTIC SUGARS

A new chromatographic method has

been developed for evaluating the fermentability of diagnostic sugars, this being the main criterion for identification of yeasts, permitting correct conclusions from the results of fermenting tests. The method

enables also to study the course of fermentation. Owing to its simplicity and reproductiveness of its results the chromatographic method is very suitable for determination of fermentability of diagnostic sugars.

Referát dr. H. Ebnera „Technické zkušenosti s acetátorem“, který byl přednesen na Mezinárodním octárenském kongrese v Scheveningen (Holandsko) v roce 1957 [1], informuje podrobně o výrobě kvasných octů submersním způsobem na přístrojích, které byly za spolupráce s vědeckými pracovníky dr. Hromatkou a dr. Ebnerem vyvinuty u fy Frings v Bonnu nad Rýnem, která je nyní pod názvem „acetátory“ dodává do celého světa.

Protože referát má význam pro rozvoj octárenské výroby u nás, podáváme jej ve stručném výtahu.

Firma Frings vyrábí a dodává acetátory ve 4 velikostech, a to na zpracování 75, 150, 300 a 600 l a. a./24 h. Acetátory se hotoví z nerez, armatury jsou z nerez nebo z plastických hmot.

Při práci s acetátorem se postupuje tak, že se naplní octem a záparou a zapne se vzdušnění. Teplo, které se uvolní při vzdušnění, ohřívá obsah acetátoru až na kvasnou teplotu, nejsou-li teplotní podmínky extrémní. Kvasná teplota se udržuje automatickým chladicím zařízením. Kvasí se tak dlouho, až se téměř všechny alkohol oxidyduje na kyselinu octovou. Potom se z acetátoru vypustí polovina náplně, načež druhá polovina v acetátoru slouží k zaočkování následující šarže. Přítok zápary je automatizován.

Používané suroviny a živiny

V acetátoru je možno zpracovat na ocet všechny suroviny obsahující alkohol. Zvláště výhodnou surovinou jsou nízkoprocentní vína s 4–6 % alkoholu, která při upoutaném kvašení způsobují zahleňování náplně. Při zkvašování samotného vína není třeba přidávat živiny, při zkvašování směsi vína a lihu přidává se Fringsova živina, což je směs minerálních solí. U vín sířených odstahuje se SO_2 peroxidem vodíku.

Rovněž ovocné víno, jehož zpracování při upoutaném kvašení činí potíže, dá se vzorně zkvašovat v acetátoru až do obsahu 12 % alkoholu. Je zde však bezpodmínečně nutný přídavek 0,01 až 0,02 % Fringsovy živiny.

V několika provozech bylo již také vyzkoušeno zkvašování sladové zápary na sladový ocet, přičemž však bylo nutno vestavět do aparatury srážecí pěny.

Všeobecně lze v acetátoru zkvašovat všechny ovocné zápary, jako např. z ananasů, banánů, citrusů nebo z jejich odpadů, jejichž zkvašování v aparátech pro upoutané kvašení činí velké potíže.

Upoutaným kvašením se na kvasný ocet nejlépe zpracují lihové zápary, protože při vysoké koncentraci a malém obsahu extraktu probíhá kvašení s relativně vysokými výtěžky a bez zahleňování. Dnes jsou však již několikaleté zkušenosti s výrobou lihového octa v acetátorech, v nichž bylo také dosaženo podstatně zvýšeného výtěžku. Sestavením speciálních živných solí a použitím bakterií, přizpůsobených podmínkám submersního lihového kvašení, které byly vypěstovány a poprvé dodány vídeňskou univerzitní laboratoří, bylo v praxi dosaženo příznivých výsledků při mimořádně dobrém a pravidelném kvašení.

Zatím je nutno dodávat 0,2 % živin. Konají se však pokusy s dalším zvyšováním koncentrace a redukcí živných solí.

Obsluha acetátorů

Časové nároky na obsluhu acetátorů se jeví takto:

K přesnému sledování šarže je nutno 2–3krát titrovat kyselinu a jedenkrát stanovit alkohol. Zpracovávají-li se velké množství zápary, zůstává délka šarže i složení

vyrobeného octa konstantní a pak se obsluha redukuje na 1–2 titrace za šarži a na 1 kontrolu alkoholu pro 3–4 šarže.

U acetátorů, dodávaných do roku 1956, byla pro zápary s 8–12 % alkoholu délka šarže 24 h, u zápar s nižším obsahem alkoholu 12 h. Po zvětšení kvasného prostoru zvýšila se délka šarže pro vysokoprocentní záparu na 48 h, pro nízkoprocentní na 24 h. Tím se obsluha zredukovala na polovinu. Čerstvá zápara se napouští automaticky za konstantní kvasné teploty. Hotový ocet se musí odtahovat v pravý čas zapnutím čerpadla. Úplná automatizace kvasného provozu se pokládá za samozřejmou. Pracuje se na automatizaci potřebných analys a odtahu hotového octa. Automatizací odtahu bude možno vybavit i acetátory, které jsou již v provozu.

Spotřeba energie

Racionální provoz vyžaduje, aby se spotřeba energie snížila na nejmenší míru, a to podle místní ceny proudu a suroviny. Referent uvádí dva příklady:

1. Acetátor staršího typu, který při výkonu 300 l alkoholu/24 h zpracoval 20 000 l alkoholu za 1469 h, spotřeboval 9578 kWh, takže jeho spotřeba energie je 0,48 kWh/l alkoholu.

2. Acetátor staršího typu s výkonem 150 l alkoholu/24 h, zpracoval 2190 l alkoholu za 316 h při spotřebě 1137 kWh. Spotřeboval tedy 0,52 kWh/l alkoholu.

Protože spotřeba energie u upoutaného kvašení je nižší, bylo nutno rentabilitu submersního octového kvašení zvýšit redukcí spotřeby energie. Prvním krokem v tomto směru bylo prodloužení šarží, přičemž redukcí spotřeby vzduchu se snížila i spotřeba energie, takže u nového typu acetátoru se spotřeba energie 0,30–0,35 kWh/l abs. alkoholu. Bylo vyvinuto 3 až 5krát účinnější větrací zařízení než pro jiná submersní kvašení, ačkoliv požadavky, kladené na větrací zařízení při submersním octovém kvašení jsou při specifických vlastnostech octových bakterií mnohem náročnější než u jiných submersních kvašení.

Spotřeba chladicí vody

Při oxydaci 1 l alkoholu na kyselinu octovou se uvolní asi 2000 kcal. Protože optimální kvasná teplota je 30 °C, je nutno veškeré přebytečné teplo odvést chladicí vodou. Při konstantní výstupní teplotě z chladiče 29 °C je množství chladicí vody závislé v první řadě na její vstupní teplotě. Je-li její vstupní teplota 9 °C, bude třeba 100 l chladicí vody k odvedení tepla, uvolněného při oxydaci 1 l alkoholu. Totéž množství chladicí vody se však spotřebuje i u hoblinové octnice, neboť množství uvolněného tepla je stejné. Pro provozy s relativně teplelou chladicí vodou dodávají se acetátory se zvětšeným chladičem. V extrémních případech je možno zvýšit kvasnou teplotu, což při zmenšeném dávkování vzduchu nemá za následek zhoršení výtěžnosti. Acetátory dodané do tropických zemí pracují velmi uspokojivě.

Výtěžky

Největší předností acetátorů je jejich zvýšená výtěžnost. Údaje o výtěžnosti jsou srovnatelné jen tehdy, vychází-li se při jejich výpočtu ze stejných předpokladů. Z 1 l a. a. se teoreticky získá 1,036 kg kyseliny octové a 0,313 kg vody. Přírůstek na objemu, který je způsoben vodou, uvolněnou během kvašení, možno v acetátoru zjistit přesným měřením objemu. Ztráty vypařením při

acetátovým provozu jsou v porovnání se starými výrobními metodami zanedbatelně malé. Z 1000 l zápary s 10 % obj. alkoholu vznikne octovým kvašením teoreticky 1031 l octa, v němž je 10,36 kg kyseliny octové. Jestliže se reakční voda nevypaří, může být vzniklý ocet teoreticky nejvýše 10 %, protože reakční voda se v acetátoru nevypařuje a hotový ocet poněkud zředuje.

Vychází-li se při výpočtu výtěžnosti ze základu, že 1 % obj. alkoholu dává 1 % váh. kyseliny octové, je dán předpoklad pro teoretický výpočet. Je však nutno přitom uvažovat, že při upoutaném kvašení není možno přesně zjistit přírůstek na objemu, protože vznikají ztráty vypařením. Při upoutaném kvašení platí přísně teoretický základ, že 1 l alkoholu dává zkvašením 1,036 kg kyseliny octové, přičemž jsou v přepočtu brány objemy. Jestliže si tento základ zjednodušíme předpokladem, že z 1 % obj. alkoholu vzniká 1 % váh. kyseliny octové, nutno vzít v úvahu, že u upoutaného kvašení dává tento předpoklad o 3 % větší výtěžek.

Jestliže tedy v acetátorovém provozu při octovém kvašení součet objemových procent alkoholu a váhových procent kyseliny octové, tzv. celková koncentrace CK zůstává konstantní, znamená to, že za provozu nenastávají ztráty. Pro běžnou kontrolu acetátorového provozu platí tedy poměr $CK \text{ zápary} \times 100 = CK \text{ výtěžku}$ a tento počet je nutno provádět při stejné sestavě zápary pro každou šarži nebo jako průměrnou hodnotu několika šarží.

Jelikož se ocet prodává podle procenta kyseliny octové, platí v obchodním smyslu pro výtěžek poměr vzniklé kyseliny octové k použitému alkoholu. Prakticky není možno vést octové kvašení až k obsahu 0,00 % alkoholu, neboť při úplném prokvašení jsou bakterie tak poškozeny, že další šarže příliš pomalu prokvašuje.

Skutečný výtěžek kyseliny octové je proto nižší než celková koncentrace CK výtěžnosti a je dán poměrem

$$\text{výtěžek} = \frac{\% \text{ kyseliny v octě} - \% \text{ kyseliny v zápaře}}{\% \text{ alkoholu v zápaře}}$$

Je-li správně stanoven alkohol, může se zápara zpracovat až na 0,2–0,05 % zbytkového alkoholu, což znamená, že tento zbytkový alkohol musí být v násadě octa při napouštění zápary. Rozdíl mezi CK výtěžku a výtěžkem kyseliny může být při dobré provozní kontrole stlačen na velmi malou hodnotu. Při omezené přesnosti stanovení alkoholu je obvyklé započít s odtahem hoto-
vého octa při 0,30 % alkoholu. Podle zkušeností se zbytek alkoholu zčásti přemění na kyselinu octovou, z další části se vytvoří aroma a nemůže se proto považovat za ztrátu. Zbytek alkoholu má zvláštní důležitost u vinného octa. Jestliže se při jeho výrobě zkvasí poslední zbytek alkoholu, nemůže se vytvořit charakteristický buket.

Při provozu acetátorů za delší časové období bylo dosaženo těchto celkových koncentrací a výtěžnosti kyseliny.

1. V acetátoru na výkon 300 l alkoholu/24 h bylo za 1469 hodin nepřetržitého provozu zkvašeno 184 000 l lihové zápary s průměrným obsahem 1,173 % váh. kyseliny a 10,827 % obj. alkoholu, přičemž byl vyroben ocet s 11,365 % kyseliny a 0,298 % alkoholu.

Výkon: 327 l alkoholu/24 h
CK výtěžnosti: 97,17 %
Výtěžek kyseliny: 94,09 %

2. V acetátoru na výkon 150 l alkoholu/24 h bylo za 1461 hodin nepřetržitého provozu zkvašeno 101 000 l vinné zápary s průměrným obsahem 2,043 % váh. kyseliny a 9,126 % obj. alkoholu, přičemž byl vyroben vinný ocet s 10,55 % kyseliny a 0,305 % alkoholu.

Výkon: 151,4 l alkoholu/24 h
CK výtěžnosti: 97,23 %
Výtěžnost kyseliny: 93,26 %

3. V acetátoru na výkon 150 l alkoholu/24 h bylo za 316 hodin nepřetržitého provozu zkvašeno 23 800 l zápary ze 60 % lihu a 40 % vína s průměrným obsahem 1,628 % váh. kyseliny a 9,208 % obj. alkoholu, přičemž byl vyroben ocet s průměrným obsahem 10,372 % kyseliny a 0,34 % alkoholu.

Výkon: 166,3 l alkoholu/24 h
Výtěžnost kyseliny: 99,00 %
CK výtěžnosti: 95,06 %

Srovnání acetátorů s hoblinovou ocetnicí

Dosažené výsledky ve výtěžnosti vedou pochopitelně k srovnání s výtěžky v hoblinové ocetnici. O rentabilitě submersního octového kvašení při práci s ovocným nebo réвовým vínem, ovocnou nebo sladovou záparou není dnes třeba diskutovat.

Bylo dosaženo neobyčejně příznivých výsledků, neboť za nepřetržitého provozu není možné zahlenění náplně. V krátkém čase se amortisovaly všechny acetátory, postavené pro tyto suroviny. Pro zjištění rentability submersního octového kvašení byly srovnávány náklady na výrobu octa u Fringsova acetátoru a u Fringsovy hoblinové ocetnice pro německé poměry.

Podklady pro výpočet výrobních nákladů jsou uvedeny v tab. 1, přehled skutečných nákladů podává tab. 2.

Tabulka 1

Podklady pro výpočet výrobních nákladů při práci v acetátoru a v hoblinové ocetnici

Náklady	Acetátor	Hoblinová ocetnice
Surovina při výtěžnosti [%]	95	90
Proud na 1 l alkoholu [kWh]	0,52	0,12
Živiny [%]	0,20	0,03
Chladicí voda na 1 l alkoholu [l]	126	126
Pracovní síla denně [h]	1	0,5
Odpisy zařízení ročně [%]	10	10
Nájem na zařízení ročně [%]	10	10

Tabulka 2

Skutečné náklady na výrobu 1000 l 10 % octa

Denní výroba octa [l/24 h]	1500	3000	6000
Hoblinová ocetnice typ A [DM]	262,50	259,90	259,90
Acetátor typ V [DM]	264,70	259,40	254,50
Acetátor typ N [DM]	262,10	257,30	252,70

Přesto, že veškeré přednosti acetátoru, jako potřeba prostoru a možnost automatické výměny suroviny, se nedají vyjádřit čísly, je již dnes jisté, že acetátor pro výrobu octa v prověřce obstál. Jeho rentabilitu je však možno ještě dál zvyšovat např. omezením dávek živných solí.

Filtrace

Každý submersně vyrobený ocet je kalný. Záparu není však třeba před zkvašením filtrovat jako u hoblinového kvašení, nýbrž se zpracuje i se zákalem a postačí jediná filtrace po octovém kvašení. Aby se získal čistý ocet, je nutno zákal odfiltrovat křemelinovým filtrem, nebo se musí zákal vykoagulovat přidávkou zúšlechťovacího prostředku. Zúšlechťovaný ocet se musí v každém případě po krátkém zaležení znovu filtrovat.

Průběh vlastní sedimentace zákalu u submersního octa závisí na jeho složení. Zatímco např. nízkoprocentní ovocný ocet se po delším skladování nevyčereí, sedimentuje vysokoprocentní vinný ocet během několika měsíců tak dokonale, že je prakticky úplně čistý.

Dobře zfiltrovaný ocet má po uskladnění a naplnění do lahví vlastností octa, vyrobeného starým způsobem. Ukazuje se, že acetátorový ocet již dnes předčí v kvalitě ocet vyrobený starým způsobem, a to proto, že úsporný dávkováním vzduchu při kvašení v acetátoru vyprchá málo aromatických látek.

Přechod na acetátorový provoz znamená tedy zvýšení výtěžku proti výrobě na dosud používaných zařízeních, a to o 5 % proti Fringsově velkoocetnici a o 20 % proti Schützenbachovým ocetnicím na výrobu ovocného octa.

Vyskytuje se však stále otázka, proč submersní kvašení octové nebylo zavedeno již dříve, když u jiných odvětví kvasného průmyslu je již známo 20 let. Důvodem jsou totiž dosud neznámé vlastnosti octových bakterií, které prakticky okamžitě odumírají i při krátkodobém přerušení přívodu vzduchu, pracují-li v kvasici zápaře s technicky požadovanou koncentrací.

Je-li přerušen přívod vzdušného kyslíku při upoutaném kvašení, rychlost kvašení se pouze zpomalí a po odstranění poruchy pokračuje ihned dále. *Hromatka a Ebner* zjistili pokusně, že u aerobních octových bakterií je možno přerušit přívod kyslíku na delší čas, aniž by bakterie byly poškozeny, ale jen při nízkých koncentracích alkoholu a kyseliny octové. Je např. možné přerušit přívod vzduchu na půl hodiny u 2 % submersního octového kvašení a po opětovém vzdušnění pokračuje kvašení dále. Při práci s roztoky vyšší koncentrace, např. 11 %, bakterie odumrou prakticky hned při krát-

kodobém přerušení vzdušnění, a to i po přerušení pouze na jednu minutu. Rychlost jejich odumření závisí mezi jiným na celkové koncentraci substrátů. Příčinou není nedostatek kyslíku, ale toxicita substrátu, alkoholu a kyseliny octové, která bakterie ihned poškozuje, jelikož není možno udržet buněčnou výměnu látkovou, na kterou má vzdušný kyslík podstatný vliv.

Do roku 1957 bylo postaveno celkem 80 acetátorů s roční výrobní kapacitou asi 80 mil. l 10 % octa, což odpovídá 80 % celkové výroby v USA.

Takto byl v octárenském průmyslu započat vývoj nového výrobního způsobu, který se dá srovnat s přechodem od povrchového kvašení na upoutané a je nutno v něm pokračovat, až bude vyřešeno technicky dokonale, plnoautomatické kvasné zařízení.

Literatura

(1) Statistische Vierteljahresschrift, Institut für Statistik an der Universität, Wien

Inž. Košťál — jc

Došlo do redakce 22. 3. 1959.