

Výroba biologicky aktívneho droždia polokontinuitným spôsobom

PETER HANULA a MARTA ČUNDERLÍKOVÁ, ÚVÚPP, pobočka Bratislava

863.253:863.1

Po predchádzajúcich laboratórnych, štvrt-, polo- a prevádzkových pokusoch [1] výroby biologicky aktívneho droždia bolo žiaduce si overiť zachovanie aktivity tohto typu droždia počas výroby polokontinuitným spôsobom v 4kaďovom cykle v n. p. ZKL Trenčín. Prevedenie týchto prevádzkových pokusov vyžaduje si jednak komplexné doriešenie výroby biologicky aktívneho droždia, najmä však sledovanie stability, eventuálne poklesu aktivity v každom nasledujúcom stupni. Kvalita droždia o vyskej biologickej aktivite totiž, okrem geneticky zakotvených vlastností produkčného kmeňa, závisí v podstatnej miere na podmienkach laboratórnej i prevádzkovej kultivácie. Povedla vhodného zloženia kombinovaného kultivačného média, treba venovať obzvláštnu pozornosť všetkým faktorom, ktoré počas technologického procesu zaručujú favorizovaný vývin α -glukózidázy enzymatického systému, pri súčastnom zachovaní aktivity zymázového komplexu.

U pekárskych kvasníč nemožno však definovať požadovanú enzymatickú aktivitu v ceste len skvasovaním určitého druhu hexózy. V múke, ako je známe, dominuje maltóza ako základná uhľohydriatová komponenta, utilizovaná droždím počas kysnutia cesta. I keď pôvodný obsah maltózy v múke je pomerne nízky, jej hladina v ceste sa neustále dopĺňuje hydrolytickou činnosťou amyláz, takže v ceste napokon vystupuje ako základná substancia. V pekárskej praxi má teda špecifický význam rýchle a spontánne skvasovanie maltózy droždím a smerodajným kvalitatívnym indikátorom droždia je rýchlosť adaptácie enzymatického systému na urýchlené skvasovanie maltózy. Intenzívna mohutnosť kysnutia droždia v ceste je však podmienená i koncentráciou prítomných konštitutívnych enzýmov, ako i celkovým fyziologickým stavom buniek, vyznačujúcich sa prítomnosťou permeáz [2], podmieňujúcich prieplustnosť bunejnej blany a regulujúcich tak rýchlosť prenikania maltózy do bunky. Pri nevhodnom postupe počas udržovania i technologického pomnožovania produkčného kmeňa, enzymatický komplex sa vyvíja jednostranne, najmä však ak kultivačné podmienky neumožňujú biogenézu dominantného enzýmu.

Pri výrobe pekárskeho droždia v melasových sladinách, t. j. droždia s obsahom konštitutívnych enzýmov, skvasujúcich viacero mono- i disacharidov, možno predpokladať, že α -glukózidáza je prítomná v enzymatickom systéme v nepatrnej miere, resp. len v latentnom stave. Podľa Zavjalova [3] však v droždiarskej praxi za intenzívneho vetrania sa i enzymatický systém kvasničnej bunky prispôsobuje aerobným životným podmienkam. Tento však v ceste, za podmienok anaerobných, vyžaduje počas kysnutia určitú adaptačnú periódu, ktorá prirodzene predlžuje dobu dozrievania cesta.

Rýchle skvasovanie maltózy biologicky aktívnym droždím, t. j. droždím s výraznými genotypickými konštitutívными vlastnosťami má teda v praxi neobyčajný význam. Skracuje totiž dobu dozrievania cesta počas jednotlivých fáz kysnutia, pri súčasnom zvýšení akostí hotových výrobkov.

Na rozdiel od domáceho konzumného droždia, vyrábaného v melasových sladinách, nastáva u biologicky aktívneho droždia rýchly vývin hlavného počiela CO_2 už v počiatocných štadiách kysnutia

cesta. Tento typ droždia s dominantným vývinom α -glukózidázového enzymatického systému skvasuje takmer s rovnakou intenzitou ako sacharózu, tak i maltózu.

Experimentálna časť

K prevádzkovým pokusom výroby biologicky aktívneho droždia sa použil produkčný kmeň RK₁, selektovaný zo zahraničného droždia, vyznačujúceho sa vysokou enzymatickou aktivitou v ceste. Pre pomnoženie sa použil jednobunkový izolát glutáteho až oválneho tvaru $7,5 \times 6,9 \mu$, ktorý sa viedol v laboratórnych podmienkach striedavo na substrátoch gluténovej, maltózovej a melasovej sladinky, bez podstatného ovplyvnenia morfológických i fermentačných vlastností [4]. Selekcia sa vykonala obvyklou izoláciou vegetatívnych monokultúr v sladinkových kvapkách. Aktivita takto selektovaného kmeňa na maltóze za anaerobných podmienok, na Warburgovom prístroji, činila 440 ml CO_2 .

Po 20 hodinovej kultivačnej període kmeňa, striedavo vedenej stacionárne i na reciprokej trepačke v 1000 ml objeme gluténovej sladinky pôvodnej sacharizácie ca 12°Bg, priživenej kukuričným extraktom, dosiahlo sa asi 10násobného pomnoženia biomasy. Mohutnosť kysnutia droždia v ceste z tejto fázy, stanovená v kvadraticko-kónickej forme [1] vykazovala tieto hodnoty: 40 + 21 + 21 = 82'.

Kvasivosť v 10% roztoku:

sacharózy: 60 + 260 + 400 + 450 = 1170 ml CO_2
maltózy: 50 + 250 + 430 + 430 = 1160 ml CO_2

Chemické zloženie:

sušina	26,33 %
N _s	8,36 %
P ₂ O _{5s}	3,69 %

Ďalšia propagačná períoda prebiehala opäť na maltózovej sladinke, za mierneho vetrania, v asi 10 l objeme; po prekvásení z pôvodných asi 10,5 až 11°Bg na asi 4°Bg vyprodukovaná biomasa sa používa ako násada pre dvojstupňovú fermentáciu na kombinovanej melasovo-maltózovej sladinke v 120 litrovom laboratórnom tanku do konečného objemu asi 80 l. Podľa exponenciálnej prítokovej schémy, dávkovanie kultivačných sladiín a živných roztokov prebieha automaticky, každú $\frac{1}{4}$ hodinu podľa predom zostaveného programu. Účinok vetrania v uvedenom tanku sa zvýšuje miešaním (180 ot/min). Produkcia biologicky aktívneho droždia počas uvedených dvoch kultivačných períód predstavuje asi 2300 až 2500 g, vykazujúc tieto hodnoty.

Mohutnosť kysnutia v ceste: 44 + 22 + 21 = 87'.

Kvasivosť v 10% roztoku:

sacharózy: 110 + 460 + 510 + 560 = 1640 ml CO_2
maltózy: 110 + 540 + 520 + 540 = 1710 ml CO_2

Chemické zloženie:

sušina	26,55 %
N _s	8,73 %
P ₂ O _{5s}	3,18 %

Z takto pripraveného biologicky aktívneho droždia sa použilo 1500 g, po predchádzajúcim preprati v 2% roztoku kyseliny mliečnej, na zakvasenie melasovej sladiny, doplnenej kukuričným extraktom

I. propagačného telesa prevádzkovej propagácie s celkovým plnením 120 l. V tomto kultivačnom stupni sa dosiahlo asi 4násobné pomnoženie, pri prekvazení z pôvodných 15⁰ Bg na asi 6⁰ Bg. Druhá propagačná fáza prebiehla opäť v maltózovej sladine do objemu 730 l, kultivácia III. propagačného stupňa, na melasovej sladine do objemu 3530 l; napokon I. generácia, taktiež na melasovej sladine, za nesterilných podmienok do objemu 150 hl.

Tabuľka 1 uvádza mohutnosť kysnutia v ceste ako i kvasivosť v 10% roztoku sacharózy a maltózy droždia v jednotlivých propagáčnych stupňoch.

Tabuľka 1

Označenie propagáčného stupňa	Mohutnosť kysnutia v ceste (v min)	Kvasivosť v 10% roztoku sacharózy a maltózy (v m CO ₂)
I. propagátor	44,21, 20 = 85	S: 25 + 385 + 415 + 465 = 1290 M: 20 + 340 + 490 + 460 = 1310
II. propagátor	42,22,18 = 82	S: 20 + 180 + 250 + 330 = 780 M: 60 + 310 + 340 + 330 = 1040
III. propagátor	39,20,18 = 77	S: 130 + 600 + 520 + 630 = 1880 M: 0 + 170 + 430 + 530 = 1130
I. generácia	35,22,18 = 75	S: 80 + 400 + 450 + 390 = 1320 M: 0 + 260 + 350 + 420 = 1030

Z týchto údajov je markantné, že vlastne nejstvuje priamy vzťah medzi mohutnosťou kysnutia cesta a kvasivosťou v 10% roztoku maltózy, resp. sacharózy.

Tabuľka 2 uvádza spektrografický rozbor popola droždia z týchto kultivačných stupňov, majúci za cieľ zistieť eventuálny vplyv stopových elementov na sledované vlastnosti droždia.

U jednotlivých vzoriek droždia previedli sme stanovenie aktivity v 100 g cesta modifikovanou kvasnou skúškou [5] podľa Engelkeho. Získané

Zloženie popola v %	I. propagátor	II. propagátor	III. propagátor	I. generácia
20	K	K	K, Mg	K
5-20	Mg	Mg	Ca	Na
1-5	Na, P	P, Na, Ca	Na	Mg, Ca
0,3-1,0	Zn, Ca	Cu, Zn	P, Zn	P, Zn
0,08-0,1	Fe, Cu	Fe	Fe, Cu	Cu
0,01-0,001	Pb, Al, Zi, Ba, Mn	Si, Pb, Al, Li, Co, Co, Ni, Ba, Ba, Mn, Si, Mn	Fe, Al, Pb, Li, Co, Ba, Pb, Ni	Cr, Mn
0,001-0,005	Sn, Sr, Cr	Sn, Ag, Sr, Cr	Sn, Sr, Cr	Si, Sn, Cr

údaje prakticky korešpondujú s výsledkami pekárskych prevádzkových pokusov a umožňujú rýchle posúdenie požadovaných vlastností.

Časť (750 kg) droždia II. generácie sa použila ako násada u 4kačového cyklu polokontinuitným spôsobom — výlučne na melasovej sladine; kultivácia u každej kadi prebiehala do brutto objemu 700 hl. Asi vo 4. hodine kvasenia sa nasadila ďalšia kada. Doba potrebná na prečerpanie polovičného objemu kvasiacej záparu do nasledujúcej kadi je asi 40 minút. Za tento čas dostáva sa asi 600 až 800 kg droždia ako násada vo forme kvasiacej záparu do nasledujúcej kvasnej kade. Súčasne s prepúštaním kvasiacej záparu sa priprísti do nasádzanej kvasnej kade zákvasné množstvo vyčerpanej melasy a živných solí. Po prevedení sa obe kade doplnia vodou a započne sa s dávkovaním vyčerpanej melasovej sladinky a roztoku živných solí. Nasledujúce kvasné kade sa nasádzajú obdobne. Posledná kvasná kada v cykle, po doplnení kvasí bez toho, že by sa v 4. hodine kvasenia (ako násada) odtiahol polovičný objem kvasiacej záparu.

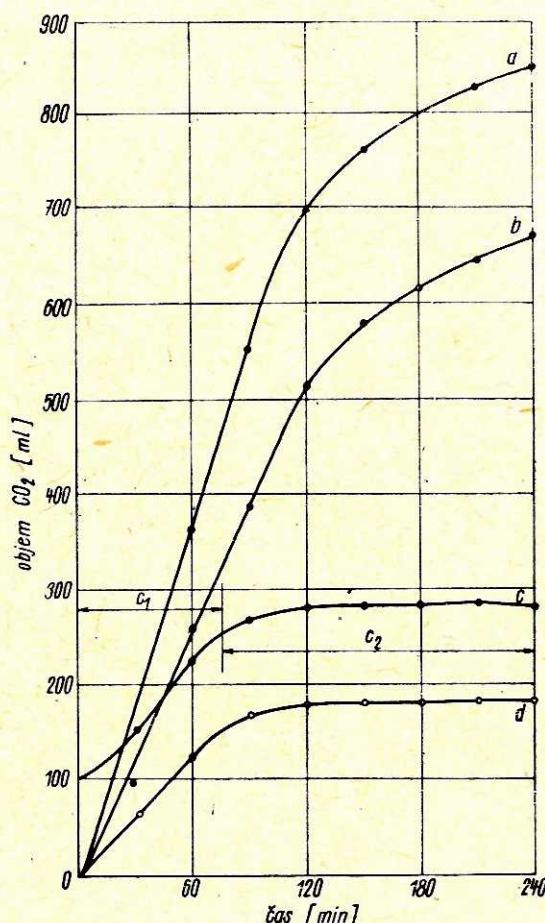
Hodnoty biologicky aktívneho droždia z jednotlivých kadi uvedeného polokontinuitného kačového cyklu uvádzajú *tabuľky 4, 5, 6*.

Tabuľka 3

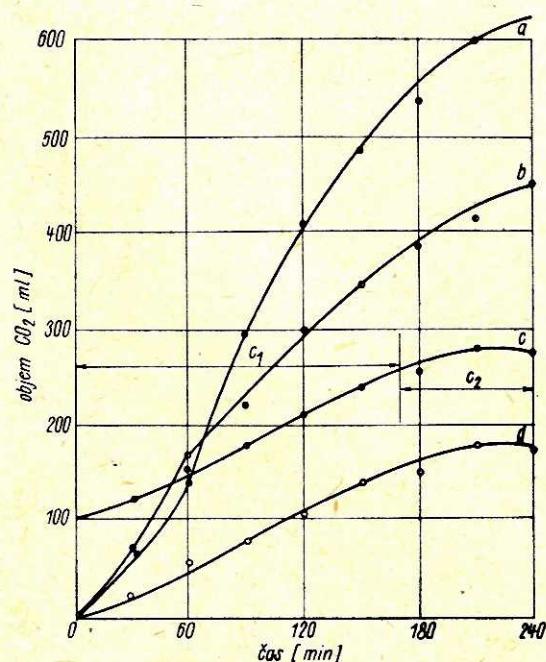
Doba kysnutia cesta v min	Objem cesta v ml				Objem kysličníka uhličitého v ml								zadržaného cestom			
					uvolneného z cesta				celkový				zadržaného cestom			
	I. p.	II. p.	III. p.	I. gen.	I. p.	II. p.	III. p.	I. gen.	I. p.	II. p.	III. p.	I. gen.	I. p.	II. p.	III. p.	I. gen.
30	175	180	180	180	110	133	89	106	185	213	149	166	75	80	60	60
60	210	230	230	260	216	216	224	163	328	348	354	423	110	130	130	160
90	280	260	275	270	290	485	341	400	470	845	516	575	180	160	175	175
120	290	280	280	285	391	567	477	496	581	747	657	681	190	180	180	185
150	290	290	280	290	452	607	551	568	642	797	731	756	190	180	180	190
180	290	290	280	290	488	647	598	604	678	837	778	794	190	190	180	190
210	295	290	280	290	519	676	632	638	714	866	812	828	195	190	180	190
240	295	290	280	290	547	708	662	666	742	898	842	856	195	190	180	190

Tabuľka 4

Číslo kade	Sušina	N _s	Protein v suš.	P ₂ O ₅ v suš.	Mohutnosť kysnutia v ceste	Kvasivosť v 10% rozt.	
						sacharózy	maltózy
1	29,83	7,3	45,62	3,84	50, 23, 20 = 93'	100 + 360 + 430 + 200 = 1100	0 + 110 + 280 + 340 = 730
2	29,19	8,22	51,37	4,62	49, 27, 27 = 93'	90 + 290 + 420 + 450 = 1250	0 + 80 + 220 + 300 = 600
3	29,08	7,80	48,75	4,18	57, 26, 24 = 97'	70 + 300 + 490 + 330 = 1190	0 + 90 + 250 + 300 = 840
4	29,32	8,88	54,12	3,95	51, 26, 24 = 91'	100 + 280 + 480 + 330 = 1170	0 + 150 + 210 + 270 = 630
Trenčín konz.	29,02	6,75	42,28	3,41	66, 45, 35 = 146	10 + 140 + 230 + 220 = 600	6 + 4 + 0 + 5 = 15



Obr. 1



Obr. 2

Ako možno porovnaním oboch grafov konštatovať, celkový objem CO_2 , vyvinutý počas 240 minút kysnutia 100 g cesta, činí u aktívneho droždia 847 ml (obr. 1, krvka a), zatiaľ čo u trenčianskeho droždia 624 ml (obr. 2, krvka a), t. j. len 73,6 %. Podstatne rozdielne sú i hodnoty CO_2 , uvoľneného z cesta. Zatiaľ čo u aktívneho droždia (kaďa 4) táto činí 667 ml, u droždia Trenčín 449 ml, t. j. 67,3 %. Zvlášť charakteristická je však krvka kysnutia cesta (obr. 1 a 2, krvky c). Cesto s biologicky aktívnym droždím vykazuje minimálnu dobu kysnutia na dosiahnutie stupňa zrelosti, kedy ho už možno ďalej spracovať — asi 75 minút a pomerne dlhý interval stability, ktorý možno považovať za jedno z objektívnych kritérií aktivity droždia v ceste.

Tabuľka 5

Kysnutie cesta v min	Objem cesta v ml				Objem kysličníka uhličitého v ml											
					uvolneného z cesta			celkový			zadržaného cestom					
	II. gen.	1.	2.	3.	II. gen.	1.	2.	3.	II. gen.	1.	2.	3.	II. gen.	1.	2.	3.
30	155	180	145	160	102	116	83	91	157	178	128	151	55	60	45	60
60	240	190	210	230	287	260	255	253	427	350	370	383	140	90	110	130
90	290	260	270	260	404	397	348	374	594	557	518	534	190	160	170	160
120	290	280	290	280	429	514	475	513	619	694	685	693	190	180	190	180
150	290	285	300	280	442	584	543	588	632	769	743	768	190	185	200	180
180	295	290	300	280	442	614	578	—	637	804	778	—	195	190	200	180
210	295	290	300	280	467	638	611	649	682	826	811	829	195	190	200	180
240	295	290	300	280	489	656	636	673	684	846	836	853	195	190	200	180

Tabuľka 6

Číslo kade	Percento zloženia popola							
	20	5-20	1-5	0,3-1	0,08-0,3	0,01-0,08	0,001-0,01	0,001--0,005
1	K	Mg, Na	—	P, Ca	Cu, Zn	Fe, Mn	Al, Li, Co, Ba	Pb, Ag, Sr, Cr
2	K	—	Mg, Na	P, Ca	Zn	Fe, Cu	Al, Co, Ba, Mn	Pb, Sn, Li, Sr
3	K	—	Mg, Na	P, Ca	Zn	Fe, Cu, Mn	Al, Co, Ba	Pb, Li, Sr, Cr
4	K	Mg	Na	P, Ca	Zn, Mn	Fe, Cu	Al, Li, Ba, Co	Pb, Sr, Cr
Trenčín exped.	K	Mg, Ca	Na	P	Mn	Fe, Al, Cu, Zn, Ba	Si, Li, Co	Sn, Cr

te (obr. 1 a 2, krvinky c₂). Obdobný objem, ktorý dosiahne cesto s biologicky aktívnym droždím po asi 75 minútach kysnutia dosiahne cesto s trenčianskym droždím po asi 165 minútach. Totožné sú však i rozdiely v množstve CO₂, zadržaného cestom (obr. 1 a 2, krvinky d), predstavujúce skutočný pracovný efekt CO₂ v ceste.

Údaje, získané uvedenou modifikovanou kvasnou skúškou u ďalších vzoriek droždia tohto cyklu (II. generácia, kaďa č. 1, 2 a 3) udáva *tabuľka 5*.

Obsah stopových elementov popola v týchto vzorkách biologicky aktívneho droždia udáva *tabuľka 6*.

Súhrn

V práci sa udávajú výsledky, získané pri výrobe biologicky aktívneho droždia polokontinuitným spôsobom do brutto objemu 700 hl. Pri pokusoch vychádzalo sa z produkčného kmeňa RK1, selektovaného zo zahraničného droždia obvyklou izoláciou vegetatívnych monokultúr v sladinových kvapkách. 24hodinová kultivačná perióda sa viedla v 1000 ml objeme gluténovej sladiny; ďalší propagačný stupeň pokračuje za mierneho vetrania v asi 10 l objeme opäť na maltózovej sladinke. Vyprodukovaná biomasa sa použila ako násada pre dvojstupňovú fermentáciu na kombinovanej melasovo-maltózovej sladinke v laboratórnom tanku do konečného objemu 80 l. Takto pripravené droždie sa použilo na zakvasenie melasovej sladiny I. propagačného telesa prevádzkovej propagácie. Druhá propagačná

ПОЛУПОТОЧНЫЙ МЕТОД ПРОИЗВОДСТВА БИОЛОГИ- ЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ

В статье приводятся результаты проверки полупоточного метода производства биологически активных дрожжей с использованием системы четырех чашек. Целью изучения являлось определение биологической устойчивости α -глюкозидазно-мальтазных дрожжей при внедрении технологии полупоточного производства и при условии применения исключительно лишь меляссовых субстратов. Полученные дрожжи отличались во всех фазах высокой биологической активностью, не уступающей активности дрожжей полученных в установках периодического действия. По сравнению с обычными дрожжами биологически активные дрожжи сокращают время брожения теста, действуют интенсивно в мальтозе и обеспечивают на длительное время устойчивость теста.

SEMIKONTINUIERLICHES HERSTELLUNGSVERFAHREN FÜR BIOLOGISCH AKTIVE HEFE

Das semikontinuierliche Verfahren wurde im 4-Bottich-Zyklus erprobt. Es handelte sich um die Prüfung der Stabilität der biologischen Aktivität des Alpha-Glukosidase-(Maltase) - Hefesystems bei semikontinuierlicher Produktion und bei ausschliesslicher Benützung von Melassesubstraten. Die Hefe zeigte in allen Phasen eine gleich hohe Aktivität wie die im üblichen Chargen-Verfahren hergestellte Hefe. Im Vergleich mit der normalen Hefe weist die biologisch aktive Hefe eine verkürzte Gärdaue, eine hohe Gärkraft in Maltose und einen sehr langen Intervall der Teigstabilität auf.

SEMI-CONTINUOUS METHOD OF MAKING BIOLOGICALLY ACTIVE YEAST

A new semi-continuous technology of preparing biologically active yeast, based on a 4-vat scheme, has been introduced to verify the stability of biological activity of α -glucosidase-maltase yeast. Besides the semi-continuous technology the experimental work was characterized by the use of molasses as a sole substrate. The product was very active in all the phases of the process being in no respect inferior to yeast processed by batch methods. The biologically active yeast has many advantages as compared with conventional types. It shortens the yeast time of dough, is extremely intensive in maltose and offers dough with prolonged stability.

fáza prebiehala na maltózovej a tretia opäť na melasovej sladinke.

U droždia, z každého propagačného stupňa, sledovala sa mohutnosť kysnutia v ceste, kvasivosť v 10% roztoku sacharózy a maltózy, kvasná skúška, modifikovaná podľa *Engelkeho*, ako i analytické údaje a spektrografický rozbor stopových elementov popola. Zo získaných údajov možno konštatovať, že medzi kvasivosťou v 10% roztoku maltózy, resp. sacharózy a mohutnosťou kysnutia droždia v ceste nejestvuje priamy vzťah. Lepšiu mohutnosť kysnutia droždia I. generácie, možno plauzibilne vysvetliť vyššou koncentráciou Na, čo by si však vyžadovalo ešte experimentálne overiť.

Časť droždia II. generácie sa použila na zákvash 4kaďového polokontinuitného cyklu, kultivovaného výlučne na melasovej sladine, u ktorejho sa takiež sledovali uvedené hodnoty. Podľa vykonaných prevádzkových pekárenských pokusov takto vyrobene aktívne droždie vyrovnavalo sa svojimi vlastnosťami droždiu zahraničnému.

Literatúra

- [1] Stuchlík V., Čunderliková M., Grodovský M., Hanula P.: Kvasný průmysl 6, 198 (1960).
- [2] Munk V., Rychta V., Trojan M.: Průmysl potravin 10, 6, 327 (1960).
- [3] Zavjalov A. A.: Chlebopekarskaja i konditerskaja promышленность, č. 4, 1959.
- [4] Stuchlík V.: Výskum výroby biologicky aktívneho droždia, Záv. zpráva UVUPP, pobočka Bratislava.
- [5] Hanula P., Semeš V., Chemické zvesti XIV., č. 9, 661-673 (1960).

Došlo do redakce 2. 9. 1963.