Živiny a fermentácia kyseliny mliečnej (I)
Rozličné zdroje sacharózy

D. HAĽAMA, P. VEĽKÝ, V. DRAHOŠ

Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Slovenskej vysokej školy technickej Bratislava

Západoslovenské konzervárne a liehovary, závod Leopoldov

Vinárske závody, n. p., Bratislava

Sledoval sa priebeh fermentácie sacharózových pôd za použitia prevádzkovej kultúry *Lactobacillus delbrückii*. Použili sa štyri pôdy: pôda z melasy, zo sacharózového roztoku získaného jej vycukornením, zo surového cukru a z čistej sacharózy. Organické živiny sa v rozličných koncentráciách pridávali do pôdy vo forme výluhu zo sladového kvetu alebo ako koncentrát aminokyselín Peramín.

Podľa rýchlosti fermentácie a fermentačných výťažkov možno vhodnosť použitých pôd uviesť v tomto poradí:
čistá sacharóza > pôda získaná vycukornením melasy > melasa > surový cukor.

Pri výrobe kyseliny mliečnej sa ako hlavný zdroj uhlíka a energie najčastejšie používa sacharóza, u nás vo forme repnej melasy. Do melasovej zápary sa pridávajú anorganické živiny (soli NH_4^+, PO_4^{3-}, niekedy aj Mg^{2+}) a zmes organických živín vo forme sladového kvetu. Ako inokulum slúži pomnožená zbierková kultúra *Lactobacillus delbrückii* alebo sa zápara očkuje objemom 10—25 % z niektorého fermentéra.

Za prevádzkových podmienok trvá fermentácia 5—8 dní. Po poklese koncentrácie sacharózy na 0,4 % sa zo zápary izoluje kyselina mliečna. U nás sa používa postup, pri ktorom sa najprv izoluje mliečnan vápenatý (vykryštalizovaním zo zahustenej zápary), ktorý sa odcentrifuguje a od kryštalizačného lúhu sa čistí vykrývaním vodou. Rozkladom kyselinou sírovou sa získa roztok kyseliny mliečnej, ktorý sa ďalej čistí a zahusťuje. Proces síce dáva dostatočne čistú kyselinu mliečnu, ale je spojený zo značnými stratami. Preto sa navrhovali iné postupy, napríklad izolácia a čistenie kyseliny mliečnej esterifikáciou metanolom. M. Gärtner [1] zasa vychádzal z toho, že pri doterajšom spôsobe najväčšie straty sú pri kryštalizácii a sú podmienené najmä veľkým obsahom nečistôt v melasovej zápare. Navrhoval používať čistejšie zápary, pripravené vycukornením melasy Steffenovou metódou [2].

Zvýšenie čistoty zápary umožní zjednodušenie postupu izolácie a zvýšenie výťažkov. Avšak melasa obsahuje celý rad látok slúžiacich mliečnym baktériám ako živiny.

Za laboratórnych podmienok sme preskúšali priebeh fermentácie sacharózy

na kyselinu mliečnu v záparách s rôznym stupňom čistoty a pri rôznych prídavkoch organických živín. Okrem výluhu zo sladového kvetu sme použili koncentrát aminokyselín Peramín, pripravený hydrolýzou odpadového peria [3—6]. V rámci možností sme sa snažili prispôsobiť podmienky pokusu prevádzkovým pomerom.

Materiál a metódy

Kultúra

Použila sa kultúra z prevádzky, ktorá sa po dobu 30 hodín pomnožila na melasovej zápare (10 % sacharózy) s 0,25 % anorganických živín a 1 % sladového kvetu a nadbytkom $CaCO_3$ pri 50 °C. Toto základné inokulum sa udržiavalo pri 0—2 °C. Očkovaním do rovnakej pôdy sa z neho pripravovalo inokulum pre jednotlivé pokusy.

Pôdy

Na prípravu zápary sa upotrebila melasa z kampane 1957/1958 (Sereď, *S* 80,2; *P* 48,8; *Q* 60,8), roztok získaný vycukornením tejto melasy (*S* 74,2; *P* 60,1; *Q* 81,0), surový cukor a čistá sacharóza (konzumná).

Melasa a roztok získaný jej vycukornením sa riedili asi na 25 °Bg vodovodnou vodou, pH roztoku sa koncentrovanou H_2SO_4 upravilo na 6,8 a po ďalšom riedení vodou na koncentráciu okolo 10 % sacharózy (teda na 17—18 °Bg, resp. 12—13 °Bg) sa roztoky sterilizovali dvakrát po 24 hodinách v Kochovom hrnci (2 hodiny). 10—11 % roztoky surového a čistého cukru sa sterilizovali rovnako.

Analogicky sa sterilizoval i roztok anorganických živín, pripravený v 10 % koncentrácii rozpustením solí v destilovanej vode v tomto pomere:

$(NH_4)_2HPO_4$	0,5 g
$(NH_4)_2SO_4$	0,5 g
superfosfát	0,5 g
NaCl	0,25 g
KH_2PO_4	0,1 g
$Mg(CH_3COO)_2 . 4H_2O$	0,1 g
$FeSO_4 . 7H_2O$	0,02 g
$MnCl_2 . 4H_2O$	0,01 g

Roztok sa pridával v množstve 20 ml na 1000 ml zápary (0,2 % solí).

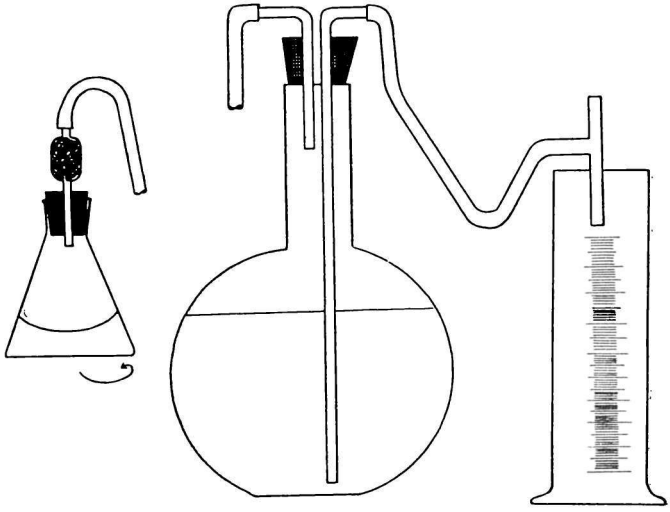
Sladový kvet sa pomiešal s destilovanou vodou v pomere 1 : 9 a vylúhoval sa za občasného miešania 4 hodiny pri 20 °C. Tento 10 % výluh sa najprv filtroval papierovým filtrom a potom sa sterilizoval filtráciou cez bakteriologický filter zo slinutého skla. Filtrát sa asepticky plnil do sterilných ampuliek, ktoré sa zatavili a až do použitia uložili pri 2—4 °C. Pomerne nízka teplota vylúženia i krátky čas sa volili s ohľadom na vylúčenie možnosti rastu mikroorganizmov počas vylúhovania.

Z koncentrátu aminokyselín získaného hydrolýzou peria (Peramín [6]) sa pripravil 1 % roztok v destilovanej vode, ktorý sa sterilizoval analogicky ako zápara.

Fermentácia

250 ml banky sa naplnili po 100 ml zápary a sterilizovali sa. Do každej sa pridalo 15 g sterilného $CaCO_3$ (sterilizovaného 2 hodiny pri 160 °C), 20 % objemu inokula a rôzne množstvá živín (výluh zo sladového kvetu alebo roztok Peramínu). Pre každú koncentráciu sa použili tri paralelné banky.

Banky sa kultivovali pri 48—51 °C na rotačnej trepačke (150 ot./min., amplitúda 1 cm). V niektorých pokusoch sa pri časti baniek zachytával CO_2 vznikajúci neutralizáciou kyseliny mliečnej uhličitanom vápenatým podľa obr. 1. Kultivácia na trepačke sa použila pre lepšiu neutralizáciu uhličitanom vápenatým.



Obr. 1. Meranie CO_2 počas fermentácie.
Na rotačnej trepačke sa kultivujú 250 ml Erlenmeyerove banky uzavreté gumovou zátkou s vatovým filtrom. CO_2 vznikajúci neutralizáciou kyseliny mliečnej s $CaCO_3$ sa vedie hadicou do trojlitrovej banky s nasýteným roztokom NaCl. Objem vytlačeného roztoku sa meria odmerným valcom.

Koncentrácia sacharózy sa stanovila jodometrickou titráciou, koncentrácia kyseliny mliečnej komplexometricky metódami používanými v prevádzke [7]. Vzhľadom na malý objem pôdy sa však priamo pipetovalo po 0,5 ml vzorky (1 ml dielkovanou pipetou) namiesto odberu 10 ml, jeho riedenia a pipetovania podielu alikvotného 0,5 ml pôdy, ako to predpisuje pôvodný predpis [7].

Výsledky sa vyjadrovali vo váhových percentách (g/100 ml).

Inokulum a posledné vzorky sa kontrolovali mikroskopicky fázovým kontrastom, pričom sa porovnávala hustota kultúr, neprítomnosť degenerovaných buniek a kontaminácie. Podobne sa kontrolovali aj vzorky, ktorých koncentrácia kyseliny mliečnej sa značnejšie líšila od koncentrácie paralelných kultúr. Kontaminované kultúry sa z pokusu a hodnotenia vyradili.

Výpočet a hodnotenie výsledkov

Odhad s_x sa vypočítal z variačného rozpätia podľa Pearsonovej tabuľky, ako ju uvádza G. W. Snedecor ([8], tab. 10). Pri výsledkoch sa udáva interval spoľahlivosti s pravdepodobnosťou P 0,05. V jednotlivých prípadoch sa významnosť rozdielu zisťovala podľa tabuliek hodnoty t [9], niekedy s použitím neparametrických metód (napríklad [10, 11]), extrémne hodnoty sa vylučovali Dixonovým Q testom [12].

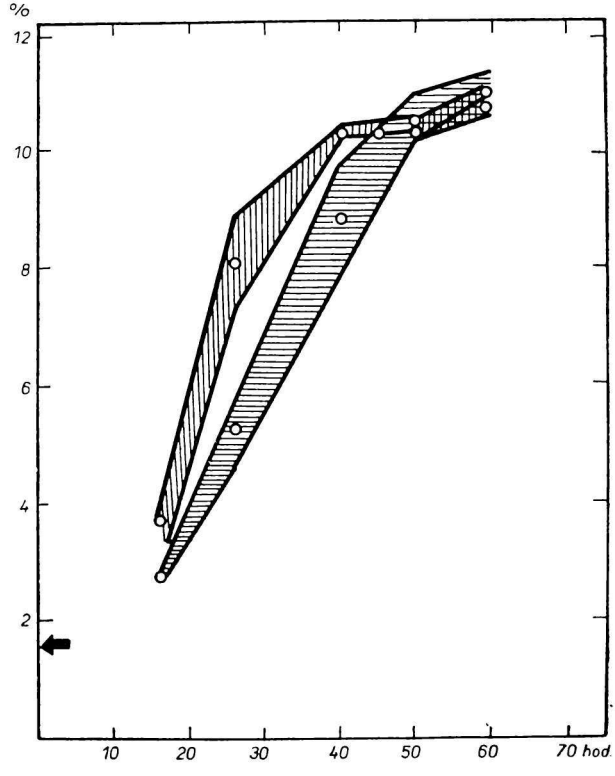
V tabuľkách udávaný fermentačný výťažok sa počítal ako percento výťažku oproti teórii:

$$\text{výťažok} = \frac{M_k - M_p}{(S_p - S_k)\ 1{,}053} \cdot 100\,,$$

kde M_k, M_p a S_p, S_k sú konečné a počiatočné koncentrácie kyseliny mliečnej, resp. sacharózy. Tento spôsob vyjadrovania výťažku sme volili preto, lebo súčasne charakterizuje i odchýlky od normálneho priebehu fermentácie.

Výsledky a diskusia

Do melasovej zápary sme pridávali sladový kvet o týchto koncentráciách (za predpokladu, že 1 ml výluhu zodpovedá 0,1 g sladového kvetu): 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1,0 % a Peramín o koncentrácii 0,4; 0,8; 1,0; 1,2; 1,6 a 2,0 10^{-2} %. Medzi priebehom fermentácie pri koncentráciách 0,1—0,4 % sladového kvetu neboli významné rozdiely ($P > 0{,}05$) a výsledky sa hodnotili ako jeden celok; podobne je to aj pri koncentráciách 0,6—1,0 %. Výsledky sú znázornené na obr. 2 a v tab. 1. V prípade Peramínu boli rozdiely v priebehu fermentácie medzi použitými koncentráciami ešte menšie; ani pri zgrupovaní výsledkov pre koncentrácie 0,4—1,0 10^{-2} % a 1,2—2,0 10^{-2} % rozdiely neboli vý-



Obr. 2. Priebeh fermentácie na melasovej pôde. Sladový kvet.
Na osi úsečiek: čas fermentácie v hodinách, na osi poradníc: koncentrácia kyseliny mliečnej v %. Šípkou je označená počiatočná koncentrácia. Výsledky sú udané ako priemerné hodnoty (krúžky) s vyznačením intervalu spoľahlivosti pri P 0,05. Nižšie koncentrácie sú čiarkované vodorovne, vyššie zvisle. Koncentrácie sladového kvetu: 0,1—0,4 % a 0,6—1,0 %.

Tabuľka 1

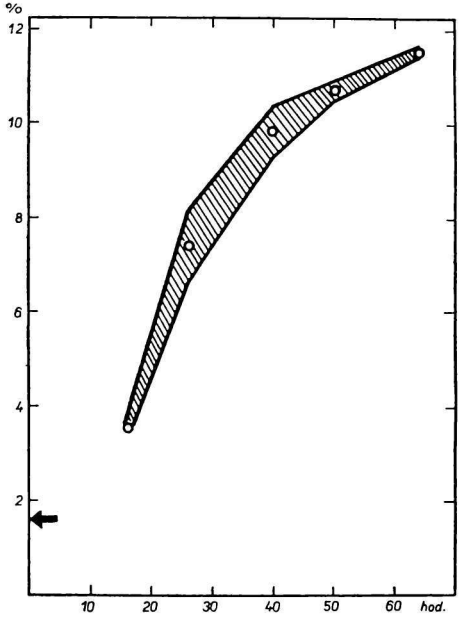
Výsledky fermentačných pokusov na melasovej zápare

Organická živina	Prídavok % 10^{-2}	Koncentrácia (%)				Fermentačný výťažok %	Dĺžka fermentácie *h*
		počiatočná		konečná			
		sacharóza	kyselina mliečna	sacharóza	kyselina mliečna		
sladový kvet	10— 40 60—100	9,94	1,57	0,07—**0,20**—0,32 0,42—**0,69**—0,96	10,9—**11,1**—11,3 10,5—**10,8**—11,1	**94,9** ±0,4 **95,1** ±0,4	60
Peramín	0,4—2	9,14	1,57	0,19—**0,29**—0,40	11,4—**11,5**—11,6	**96,9** ±0,7	64

Výsledky sa udávajú ako priemerné hodnoty (vytlačené polotučne) a hranice intervalu spoľahlivosti pri P 0,05, teda $\bar{x} \pm t \,.\, s_{\bar{x}}$.

znamné. Iba pre koncentráciu 1,2—10^{-2} % Peramínu v prvej časti fermentácie (do 40. hodiny) dal t test významné hodnoty ($P < 0{,}05$) v porovnaní s výsledkami pri iných koncentráciách. Avšak pri použití neparametrického testu pre celý priebeh fermentácie táto koncentrácia poskytla najlepšie výsledky ($P \ll 0{,}01$), ktoré sú znázornené na obr. 3 a v tab. 1.

S rovnakými koncentráciami živín sa urobil fermentačný pokus s pôdou pripravenou zo surového cukru. Výsledky sú uvedené na obr. 4 a 5 a v tab. 2. V porovnaní s ostatnými pokusmi ani pri najvyššej koncentrácii Peramínu fermentácia neprebiehala dostatočne rýchlo a i pri skončení pokusu ostala asi 1/4 sacharózy nesfermentovaná. Pri sladovom kvete fermentácia prebiehala rýchlejšie, avšak z porovnania výsledkov vidieť, že až prídavok okolo 1 % výraznejšie stimuluje. Pritom v obidvoch prípadoch je pomerne nízky fermentačný výťažok.



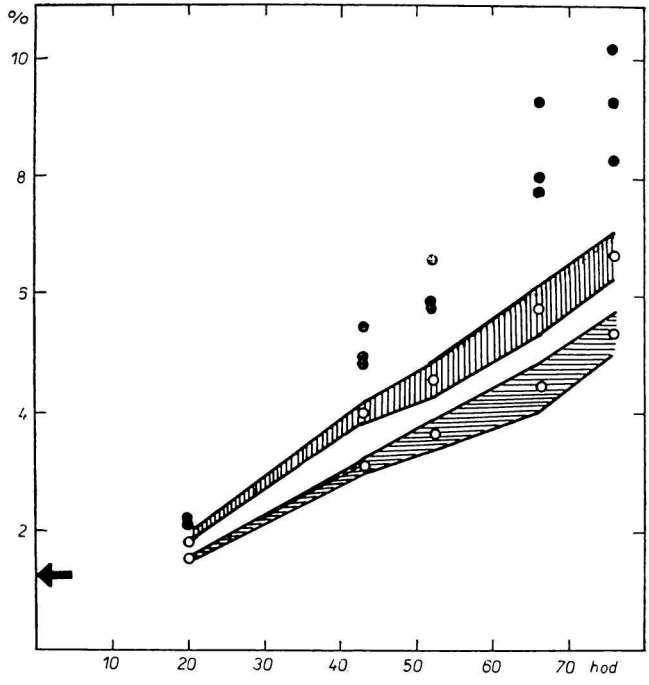
Obr. 3. Priebeh fermentácie na melasovej pôde. Peramín.
Koncentrácia Peramínu: 0,4—2,0 10^{-2} %.
Vysvetlivky pozri na obr. 2.

Tabuľka 2

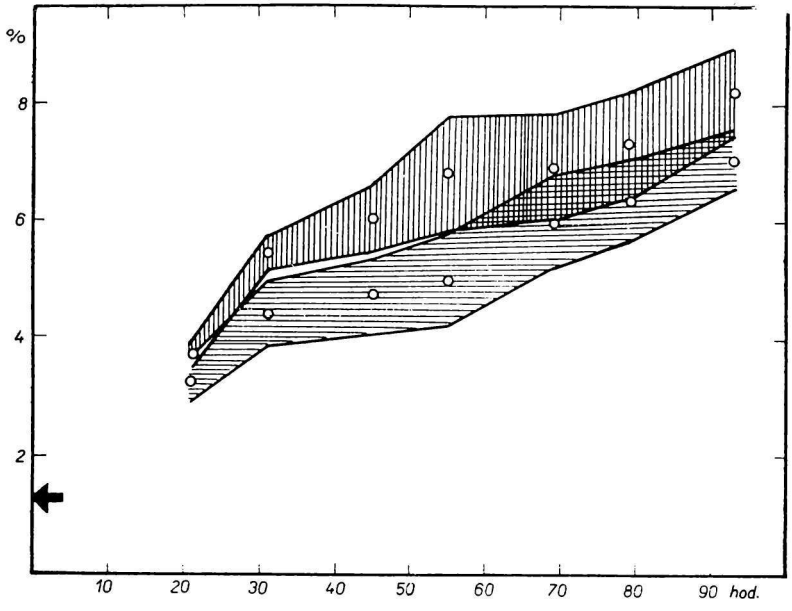
Výsledky fermentačných pokusov na zápare zo surového cukru

Organická živina	Prídavok % . 10^{-2}	Koncentrácia (%)				Fermentačný výťažok %	Dĺžka fermentácie *h*
		počiatočná		konečná			
		sacharóza	kyselina mliečna	sacharóza	kyselina mliečna		
sladový kvet	10—40 60—80 100	9,94	1,28	4,3—**4,6**—4,9 1,1—**2,2**—3,2 0,72; 0,22; 0,36	5,0—**5,4**—5,8 6,3—**6,7**—7,1 8,35; 10,23; 9,32	**80,3** ±4,7 **71,0** ±5,2 76; 89; 82	76
Peramín	0,4—1,2 1,6—2,0	9,72	1,3	2,7—**3,4**—4,2 1,5—**2,4**—3,4	6,6—**7,1**—7,6 7,5—**8,2**—9,0	**89,0** ±4,9 **92,0** ±1,4	93

Podobne ako v tab. 2 výsledky sú udané ako priemerné hodnoty (vytlačené polotučne) a hranice intervalu spoľahlivosti pri *P* 0,05; okrem hodnôt pre koncentráciu 1 % sladového kvetu.



Obr. 4. Priebeh fermentácie na pôde zo surového cukru. Sladový kvet. Koncentrácie sladového kvetu: 0,1—0,4 % (vodorovne čiarkované), 0,6 až 0,8 % (zvisle čiarkované) a 1,0 % (čierne body). Vysvetlivky pozri na obr. 2.



Obr. 5. Priebeh fermentácie na pôde zo surového cukru. Peramín. Koncentrácie Peramínu: 0,4—1,2 a 1,6—2,0 10^{-2} % Vysvetlivky pozri na obr. 2.

Preto pri ďalších pokusoch sa použili väčšie prídavky organických živín. Pri zápare pripravenej vycukornením melasy sa pridávalo 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 a 1,5 % sladového kvetu vo forme výluhu a 0,8; 1,0; 1,2; 1,6; 2,0 a 2,4 10^{-2} % Peramínu. Z výsledkov znázornených v tab. 3 a na obr. 6 a 7 vyplýva, že

Tabuľka 3

Výsledky fermentačných pokusov na sacharózovej zápare získanej vycukornením melasy

Organická živina	Prídavok % 10^{-2}	Koncentrácia (%)				Fermentačný výťažok %	Dĺžka fermentácie *h*
		počiatočná		konečná			
		sacharóza	kyselina mliečna	sacharóza	kyselina mliečna		
sladový kvet	20—60 80—150	10,22	1,6	0,10—**0,25**—0,40 0,17—**0,37**—0,56	11,3—**11,5**—11,7 11,1—**11,4**—11,7	**95,2** ±0,8 **94,8** ±0,8	54
Peramín	0,8—1,2 1,6—2,4	10,3	1,5	0,03—**0,52**—0,98 0,14—**0,22**—0,31	10,6—**11,1**—11,5 11,3—**11,5**—11,7	**93,8** ±1,0 **94,5** ±1,2	56

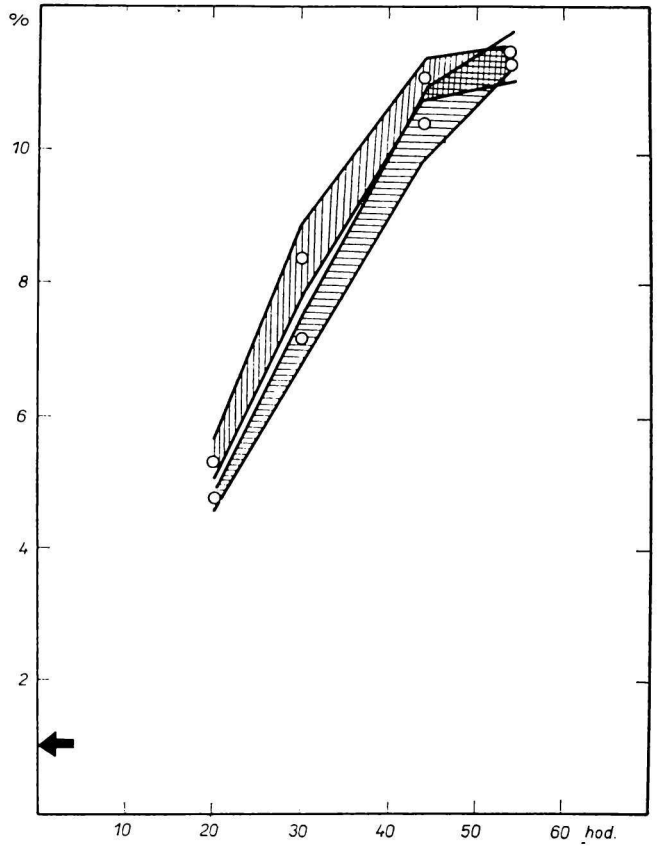
Vysvetlivky pozri v tab. 1.

Tabuľka 4

Výsledky fermentačných pokusov na sacharózovej zápare

Organická živina	Prídavok % . 10^{-2}	Koncentrácia (%)				Fermentačný výťažok %	Dĺžka fermentácie *h*
		počiatočná		konečná			
		sacharóza	kyselina mliečna	sacharóza	kyselina mliečna		
sladový kvet	40—120 160—240	8,83	1,28	0,28—**0,40**—0,52 0,30—**0,53**—0,76	9,5—**9,7**—9,9 8,9—**9,2**—9,5	**95,7** ±2,1 **91,6** ±1,1	48
Peramín	0,8—2,0 2,5—3,0	8,83	1,28	0,33—**0,53**—0,73 0,71—**1,31**—1,91	9,3—**9,6**— 9,9 6,3—**8,2**—10,0	**95,8** ±1,3 **86,9** ±0,7	48

Vysvetlivky pozri v tab. 1.

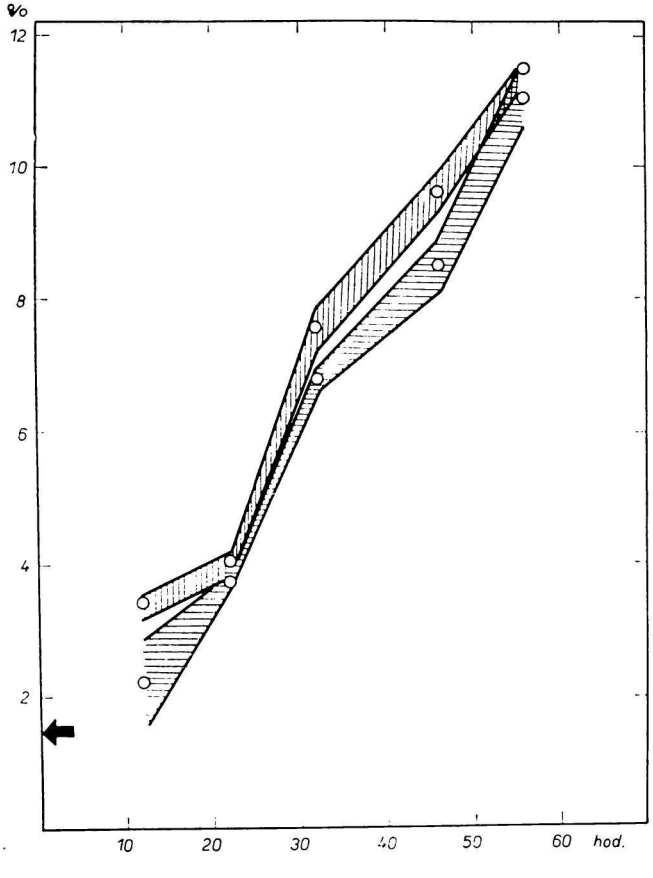


Obr. 6. Priebeh fermentácie na pôde získanej vycukornením melasy. Sladový kvet. Koncentrácie sladového kvetu: 0,2—0,6 a 0,8—1,5 %. Vysvetlivky pozri na obr. 2.

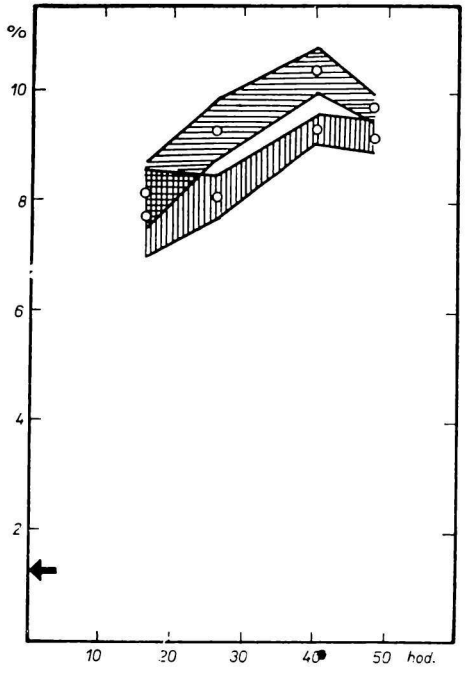
významnejšie stimulovali až vyššie koncentrácie. Neparametrickým T testom [8] sa zistilo, že optimum prídavku zo sladového kvetu bolo okolo 0,8 % a Peramínu okolo 2 10^{-2} %. Významné rozdiely, podobne ako pri iných pokusoch, boli však predovšetkým v strede fermentačnej krivky. Na začiatku a najmä na konci fermentácie rozdiely vo výsledkoch fermentácie boli malé.

V poslednej sérii pokusov sa použila čistá sacharóza (konzumný cukor) s prídavkom sladového kvetu od 0,4 % do 2,4 % a Peramínu od 0,8 do 3 10^{-2} %. Výsledky sú na obr. 8 a 9 a v tab. 4. Tu už badáme zreteľnú inhibíciu fermentácie i pokles fermentačných výťažkov pri vyšších prídavkoch organických živín.

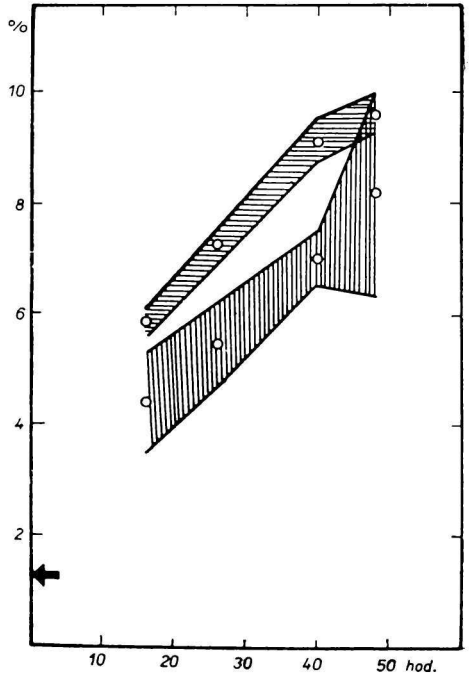
Podobne ako pri prvej sérii pokusov s melasou sme pre plynulé sledovanie priebehu fermentácie použili meranie objemu CO_2 podľa obr. 1 pri časti baniek. Ak sa však na melasovej pôde nezistili rozdiely vo výsledkoch fermentácie medzi bankami uzavretými vatovými zátkami a bankami, v ktorých sa meralo množstvo CO_2, na pôde so sacharózou pri posledných nastala zreteľná



Obr. 7. Priebeh fermentácie na pôde získanej vycukornením melasy. Peramín. Koncentrácia Peramínu: 0,8—1,2 a 1,6—2,4 . 10^{-2} %. Vysvetlivky pozri na obr. 2.



Obr. 8. Priebeh fermentácie na pôde z čistej sacharózy. Sladový kvet. Koncentrácie sladového kvetu: 0,4—1,2 a 1,6—2,4 %. Vysvetlivky pozri na obr. 2.



Obr. 9. Priebeh fermentácie na pôde z čistej sacharózy. Peramín. Koncentrácie Peramínu: 0,8—2,0 a 2,5—3,0 . 10^{-2} %. Vysvetlivky pozri na obr. 2.

inhibícia fermentácie ($P \ll 0{,}01$). Možné vysvetlenie je v tom, že pri meraní množstva CO_2 sa zvyšuje tlak v bankách o niekoľko cm vodného stĺpca a teda i obsah rozpusteného CO_2 v pôde. Tým sa nevyhnutne znižuje pH, ak pôda nie je dostatočne pufrovaná. O melase je známe, že má vysokú pufrovaciu kapacitu.

Optimálne koncentrácie živín sa pohybovali okolo 0,4—0,8 % pri sladovom kvete a 0,8—1,5 10^{-2} % pri Peramíne. Pri malom počte paralelných pokusov však významnosť rozdielu oproti iným koncentráciám nebola dostatočná. Pri dvojstrannom kritériu iba v niektorých prípadoch bola hodnota $P \leq 0{,}05$.

Možné vysvetlenie zdanlivého paradoxu inhibície fermentácie prídavkom organických živín je v nevhodnom pomere aminokyselín. Je známe, že mliečne baktérie vyžadujú celý rad aminokyselín. Niektoré štruktúrne blízke aminokyseliny, napríklad valín a leucín pôsobia navzájom inhibične. Požiadavky na aminokyseliny u mliečnych baktérií sú však podmienené aj tým, či sú prítomné voľné alebo vo forme peptidov, ďalej prítomnosťou niektorých

vitamínov (najmä B_6) [13—16], ale aj rôznymi kultivačnými podmienkami, napríklad teplotou alebo pH.

Za takýchto okolností je zrejmé, že bežné hodnotenie kultivačných pôd, napríklad podľa pomeru C/N, u mliečnych baktérií neposkytuje prakticky použiteľné kritériá ich vhodnosti. Ak sme zisťovali koncentráciu aminodusíka (podľa Moora a Steina [17]) vo vyskúšaných pôdach, medzi ňou a ďalším priebehom fermentácie nebolo možné nájsť nejakú koreláciu. Napríklad pôda z čistej sacharózy, na dusík najchudobnejšia, dala najlepšie výsledky (pri prídavku 0,4—1,0 % sladového kvetu fermentácia sa skončila už okolo 40. hodiny). Pôda zo surového cukru, ktorá obsahovala asi polovicu NH_2-dusíka oproti melasovej pôde, ukázala sa ako najmenej vhodná, na čo poukazuje i celkový priebeh fermentácie (obr. 4 a 5) a nízke výťažky (tab. 2).

Peramín stimuluje fermentáciu v podstatne nižších koncentráciách než sladový kvet. Avšak podľa priebehu fermentačných pokusov sa zdá, že sladový kvet dáva lepšie výsledky.

Nie je vylúčené, že priaznivý účinok prídavku organických dusíkatých živín je podmienený skôr „vyvážením" pôdy než špecifickou stimuláciou niektorou z aminokyselín. Ak sa v pôde pre kultiváciu mliečnych baktérií zdvojnásobí koncentrácia aminokyselín, ďalší prídavok niektorej z nich už podstatne neovplyvní priebeh fermentácie [18].

Je zrejmé, že presnejšiu odpoveď na otázku o vhodnosti pôdy pre kultiváciu a fermentáciu mliečnych baktérií by mohli dať analýzy jednotlivých aminokyselín počas fermentácie. Touto otázkou sa zaoberáme v ďalšom článku.

ПИТАТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА И МОЛОЧНОКИСЛОЕ БРОЖЕНИЕ (I) РАЗЛИЧНЫЕ ИСТОЧНИКИ САХАРОЗЫ

Д. Галяма, П. Вельки, В. Драгош

Кафедра технической микробиологии и биохимии
Словацкого политехнического института, Братислава

Западнословацкие консервные и спиртные заводы,
Леополдов
Винодельческие заводы, Братислава

В лабораторных опытах сравнивали применимость культивационных сред из свекловичной мелассы, сахара-сырца, раствора сахарозы, полученного сепарацией сахара из мелассы Стеффеновым способом, и из чистой сахарозы для получения молочной кислоты с помощью культур *Lactobacillus delbrückii*. При этом была использована производственная культура.

Для стимуляции брожения прибавляли экстракт солодовых ростков или концентрат аминокислот Перамин.

Среды засевались объемом 20 % инокулята и культивировались на круговой качалке при 50°C. Молочная кислота нейтрализовалась углекислым кальцием, прибавляемым в избытке в начале культивации.

Брожение контролировалось определением концентрации молочной кислоты, начальной и конечной концентраций сахарозы и микроскопически. В некоторых опытах измерялся также объем двуокиси углерода, возникающей при нейтрализации молочной кислоты. Результаты обрабатывались статистически.

На основе скорости брожения можно сравнить пригодность сред в следующем порядке: чистая сахароза > раствор сахарозы, полученный сепарацией сахара из мелассы по Стеффену, > меласса > сахар-сырец.

Перамин, в сравнении с экстрактом солодовых ростков, проявлял стимуляционное действие при более низких концентрациях. Но в обоих случаях характер ферментации существенно не отличался и кажется, что солодовые ростки для стимуляции брожения подходят лучше. Оптимум прибавки этих питательных веществ зависит от основной среды и колеблется в диапазоне 0,8—1,2 % (солодовые ростки) и 0,8—2 10^{-2} % (Перамин). Между содержанием аминного азота среды и течением ферментации не нашли никакой корреляции.

Уже умеренное повышение давления углекислоты в средах из чистой сахарозы в значительной степени термозило брожение. Это явление не обнаруживалось на мелассовых средах.

Результаты обсуждаются с точки зрения применимости их на практике и в сравнении с литературными данными о питании молочнокислых бактерий.

Preložil D. Haľama

NUTRIENTS IN LACTIC ACID FERMENTATION (I) VARIOUS SOURCES OF SUCROSE

D. Haľama, P. Veľký, V. Drahoš

Department of Technical Microbiology and Biochemistry,
Slovak Polytechnical University, Bratislava
West-Slovakian Canning Industry and Distilleries, Factory Leopoldov
Vine-cellars, Bratislava

By laboratory fermentation experiments the suitability of media from molasses, raw sucrose, a solution of crude sucrose obtained from molasses by the Steffen process (calcium saccharate process) and of pure sucrose for the production of lactic acid by cultures of *Lactobacillus delbrückii* was studied and compared.

For the stimulation of fermentation malt sprout extract and the aminoacid concentrate Peramin was used.

For the cultivation a temperature of 50 °C, an inoculum of 20 per cent and a rotary shaker was used. The formed lactic acid was neutralized by a single dose of a surplus of $CaCO_3$.

The process of fermentation was supervised by assays of lactic acid, by assays of the initial and final concentrations of sucrose and microscopically. In some experiments also the amount of CO_2 formed by the neutralisation of lactic acid was measured.

According to the speed of fermentation the following sequence of suitability of the media was established:

Pure sucrose > Medium with sucrose obtained by the Steffen process > Molasses > Raw sugar.

Peramin stimulated the fermentation process in substantially lower concentrations as malt sprout extract. The character of the fermentations was the same in both cases

but malt sprout extract seems to be more suitable. The optimal dose of these nutrients depends on the basal medium and was found to lie in the region of 0,8 — 2 . 10^{-2} and 0,8 — 1,2 per cent for Peramin and malt sprout extract, respectively. No correlation between the NH_2-nitrogen content and the course of fermentation was observed.

Even a slight increase of the CO_2-pressure in the medium containing pure sucrose resulted in a substantial inhibition of the fermentation while in the medium containing molasses this phenomenon was not observed.

The presented results are discussed from the point of view of practical application and are also compared with data on the nutrition of lactic acid bacteria.

Preložil J. Balan

LITERATÚRA

1. Gärtner M., *Výroba kyseliny mliečnej a jej čistenie.* Záverečná zpráva, SAV, Bratislava 1954.
2. Vašátko J., Gärtner M., Kleinertová A., *Průmysl potravin* ***10***, 47 (1958).
3. Veliký I., *Arch. exp. Veterinärmedizin* ***14***, 1 (1960).
4. Veliký I., *For Socialist Agricultural Science*, Vol. 1. Nakladatelství ČSAV, Praha 1961.
5. Veliký I., Hunčíková S., Prašivková A., *Kvasný průmysl* ***7***, 251 (1960).
6. Veliký I., Čs. pat. 94 946 (1960).
7. Gärtner M., Šepitka A., *Kontrola výroby kyseliny mliečnej*, 27, 79. Vydavateľstvo SAV, Bratislava 1962.
8. Snedecor G. W., *Statističeskije metody v primenenii k issledovanijam v seľskom chozjajstve i biologii.* Seľchozgiz, Moskva 1961.
9. Janko J., *Matematiko-statističeskije tablicy*, 122. Gosstatizdat, Moskva 1961.
10. Nalimov V. V., *Primenenije matematičeskoj statistiki pri analize veščestva*, 185. Fizmatgiz, Moskva 1960.
11. Ašmarin I. P., Vorobjov A. A., *Statističeskije metody v mikrobiologičeskich issledovanijach*, 42. Medgiz, Leningrad 1962.
12. Lokvenc F. A. v knihe Kocková-Kratochvílová A., *Praktikum technické mikrobiologie*, 351. Státní nakladatelství technické literatury, Praha 1954.
13. Snell E. E., *Bact. Revs* ***16***, 235 (1952).
14. Peters V. J., Prescott J. M., Snell E. E., *J. Biol. Chem.* ***202***, 521 (1953).
15. Prescott J. M., Peters V J., Snell E. E., *J. Biol. Chem.* ***202***, 533 (1953).
16. Peters V. J., Snell E. E., *J. Bact.* ***67***, 69 (1954).
17. Keil B., Šormová Z. (red.): *Laboratorní technika biochemie*, 479. Nakladatelství ČSAV, Praha 1959.
18. Ågren G., *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* ***35***, 91, 97, 136 (1954).

Do redakcie došlo 22. 8. 1963

Adresa autorov:

Inž. Dušan Haľama, C. Sc., Katedra technickej mikrobiológie a biochémie SVŠT. Bratislava, Kollárovo nám. 2.

Inž. Pavel Veľký, Západoslovenské konzervárne a liehovary, Leopoldov.

Inž. Viliam Drahoš, Vinárske závody, n. p., Bratislava, Pražská 1.