

# Problematika a metody stanovení trvanlivosti droždí

BOHUMIL MÍČA

Výzkumný ústav kvasného průmyslu, Praha

663.12./14

Trvanlivost droždí je jedním z hlavních znaků jakosti droždí. Droždí jako hotový výrobek má mít takovou trvanlivost, aby vydrželo v dobrém stavu až do té doby než je spotřebováno.

Trvanlivost droždí je závislá na dopravě, na požadavcích spotřeby i na roční době. Největší požadavky na trvanlivost mají pekárny, maloobchod, atd., které nemají často dostatečné podmínky k do-  
brému uskladnění výrobku. V praxi by bylo ideál-

ním řešením skladovat droždí při teplotě 4 až 8 °C. Teploty 8 až 12 °C jsou ještě příznivé. Vyšší teploty jsou však již méně vhodné, při teplotách nad 15 °C dochází již k vnitřním reakcím v buňkách, čímž se trvanlivost značně snižuje. Teplota pod 0 °C prakticky nepoškozuje dobré droždí, rozmrzá-li pozdě-  
náhlou. Vlhkost prostředí, zejména za vyšších teplot, má však na trvanlivost droždí značně nepříznivý vliv. Vlastní stanovení trvanlivosti droždí má velký



význam pro hodnocení výrobku. Zde však narážejí kontrolní laboratoře na velký problém, jak zkrátit dobu potřebnou k provedení stanovení. Dosud používané metody jsou značně zdoluhavé a jejich výsledky jsou známe, až když je výrobek distribuován spotřebitelům. Jeví se tedy potřeba nalézt novou metodu, po příp. běžné metody modifikovat, aby se podstatně zkrátila doba stanovení a současně se získal správný obraz o jakosti vyrobeného droždí po stránce trvanlivosti.

Proto jsme provedli srovnání dosud používaných metod ke stanovení trvanlivosti droždí, a to zkoušku v Petriho misce za sucha a za vlhka, ve vysoušečce, v liberce, glykogenový test a metodu konduktometrickou. Ke srovnání bylo použito serie vzorků z různých výrobních oblastí, a to: Olomouc—Hejčín, Ústí n. L.—Krásné Březno a Plzeň. Kromě stanovení trvanlivosti droždí v liberce byly zkoušky prováděny se vzorky, odebranými z termostatu, regulovaného na 35 °C, t. j. při teplotě příznivé působení proteolytických enzymů. Současně s těmito zkouškami se konal i chemický rozbor droždí.

Byl stanoven obsah celkového dusíku mikrometodou v přístroji podle Roy-Markhama a stanovení vlhkosti sušením infralampou a dosoušením v sušárně při 105 °C. Chemický rozbor byl proveden jako doplněk k výše uvedeným zkouškám.

Zkouška v Petriho misce za sucha se provádí tak, že se vloží do Petriho misky plátek droždí z liberky tloušťky asi 1 cm a dá do termostatu na 35 °C. Plátek se balí do papíru používaného k balení liberky.

Za vlhka se stanoví trvanlivost obdobně, jen s tím rozdílem, že se papír, do něhož je plátek droždí zabalen, ovlhčuje vodou. Postupující autolysa se u obou metod projevuje vlnutím, pachem, měknutím až ztekucením, což je kritériem zkažení.

Zkouška ve vysoušečce se provádí tak, že se do vysoušečky nadusá asi 10 g droždí, přikryje papírovým kotoučkem a uzavře víčkem. Sledování a postup autolysy je stejný jako u zkoušek předešlých. Stanovení v liberce je prováděno tak, že se liberka v dřevěné bedničce uloží při pokojové teplotě a denně se kontroluje vzhled, vůně, po příp. barva, plísňovitost a ostatní znaky.

Na průběh autolysy u liberky lze soudit již podle obrazců, které tvoří trhliny na povrchu. Trhá-li se droždí v pravidelných obrazcích, lze soudit, že jeho kvalita je dobrá. Podstata další zkoušky, a to glykogenového testu, spočívá v měření štěpení glykogenu v kvasničné buňce. Ještě před rozpadem bílkoviny v buňce probíhá štěpení uhlohydrátů, mezi něž patří glykogen. Kvasničný glykogen lze dokázat roztokem jodu hnědým zbarvením. Podle obsahu glykogenu v kvasničných stupněm zbarvení s jodem lze soudit na rychlost štěpení tohoto uhlohydrátu. Německé údaje uvádějí, že štěpení glykogenu a trvanlivost droždí jsou na sobě v jistém směru závislé a že droždí tím rychleji měkne, čím rychleji zmizí glykogen.

Glykogenový test se provádí se vzorkem odebraným z termostatu tak, že se přidá k 0,5 g droždí roztřepaného v 5 ml vody 0,5 ml 0,1 N roztoku jodu a podle barevné stupnice se pak porovnávají hodnoty. Na trvanlivost droždí se soudí podle doby, které je třeba k dosažení hodnoty 5 srovnávací stupnice.

Další metoda konduktometrická spočívá v podstatě v měření vodivosti uvolňovaných elektrolytů z buněk postupující autolysou. Vzorky se odebírají z termostatu, kde jsou uloženy opět při 35 °C.

Hodnoty se vyjadřují počtem dílů Šanderova konduktometru. Všechny metody dávají více méně objektivní obraz o trvanlivosti droždí. Nevyžadují mnoho času na vlastní kontrolu, nepotřebují nákladné přístroje, chemikálie, nepotřebují kvalifikované odborné síly. Jejich velkou nevýhodou je však dlouhá doba, kterou k získání výsledku potřebují. Stanovení trvanlivosti droždí v Petriho misce za sucha však trvá ještě déle než v Petriho misce za vlhka, v průměru asi o 24 hodiny. Stanovení trvanlivosti ve vysoušečce trvá v poměru ke stanovení v Petriho misce za sucha ještě o den déle.

Z těchto tří různých zkoušek vychází tento stupeň ztekucování droždí:

Nejprve ztekutí droždí v Petriho misce za vlhka, druhý den nato v Petriho misce za sucha a konečně třetí den ztekutí ve vysoušečce.

Největší odchylky jsme zaznamenali ve vysoušečce, kde se časový rozdíl pohyboval v rozmezí 0 až 24 hod. vzhledem ke stanovení v Petriho misce za sucha. Nejrychlejší je tedy stanovení trvanlivosti droždí v Petriho misce za vlhka. Je to ovšem metoda, která neodpovídá normálnímu způsobu skladování droždí. Stanovení trvanlivosti ve vysoušečce je spíše metoda doplňková, protože je prováděna prakticky za stejných podmínek jako v Petriho misce za sucha jen s tím rozdílem, že droždí je zde napěchováno a dokonaleji odděleno od okolí. Trvanlivost v liberce je jen ověření trvanlivosti výrobku za běžných skladovacích podmínek. Pro vlastní hodnocení výrobku však nemá velký význam, protože doba, potřebná ke stanovení je velmi dlouhá a nevyváží jednoduchost metody. Glykogenový test je metoda, která sice dává velmi rychle výsledky, ale není řádně propracovaná a aplikovaná na naše droždí. Podle německých údajů je schopna poskytnout dobré výsledky jen při obsahu 32 až 40 % bílkovin v sušině. Metoda konduktometrická je v podstatě rychlejší než metody dosud prováděné, a to asi o 2 dny. Z počátku se elektrická vodivost droždí zvyšuje poznamenáhl, pak prudce stoupá a dosahuje značných hodnot. Na př.: první den byla elektrická vodivost 22,0 dílků konduktometru, druhý den 31,0, třetí den 46,0. Další den nastal zlom, elektrická vodivost stoupla na 72,0 a další den na 143, kdy také ztekutíla zkouška v Petriho misce za vlhka.

Jak je vidět z příkladu, stoupá elektrická vodivost těsně před vlastním ztekucením. Elektrolyty, které mohou ovlivňovat elektrickou vodivost droždí, jsou trojího typu:

1. elektrolyty z praci vody,
2. elektrolyty ze sladiny, praním neodstraněné,
3. elektrolyty vydifundované z poškozených buněk, které mají rozhodující vliv na vodivost droždí.

Praktický význam zjišťování vodivosti tkví v tom, že podle zjištění nízkých hodnot můžeme soudit, že fyziologický stav buněk je ještě dobrý, což je současně i dobrým znakem pro trvanlivost droždí. Stoupne-li vodivost přes hranici 70 dílků poznáme, že droždí brzy ztekutí. Ve zjišťování vodivosti droždí tkví určitá perspektiva pro stanovení trvanlivosti, protože tato metoda dává výsledky shodné s výsledky jiných metod a je v průměru o dva dny kratší. Ovšem je otázka, do jaké míry se naše předpoklady o její vhodnosti splní. Tím se bude zabývat další výzkum, který bude sledovat autolysu droždí jako následek aktivity proteolytických enzymů.

Autolysa je enzymatický proces, při kterém buňka štěpí a protravuje svůj obsah vlivem vlastních



enzymů. Je značně závislá na teplotě prostředí. Charakteristickým znakem autolysy je uvolňování rozpustných dusíkatých látek. Autolysa závisí hlavně na aktivitě proteolytických enzymů, které působí jen při určitém pH prostředí.

Rozklad kvasničné buňky probíhá v hlavní míře jako rozpad bílkovinné substance, vzhledem k vysokému obsahu bílkovin (35—50 % v sušině). Obecně pak platí pravidlo, že čím jsou kvasinky bohatší dusíkem, tím je jejich trvanlivost menší. Vliv obsahu dusíku na trvanlivost je podmíněn ještě způsobem vazby dusíku. Čím více dusíku je vázáno v nízkomolekulárních sloučeninách, tím je trvanlivost menší a naopak. Polypeptidické řetězce bílkovin jsou tvořeny aminokyselinami, navzájem spojenými -CO-NH vazbou, zvanou peptidickou.

Stupeň rozpadu bílkovin lze tedy sledovat přírůstkem aminokyselin v roztoku. Přírůstek aminokyselin za určitou dobu a za daných podmínek budeme sledovat t. zv. formolovou titrací, která spočívá v titraci volné karboxylové skupiny aminokyseliny po otupení zásaditého charakteru aminoskupiny přidavkem formaldehydu. Takto lze určit aminokyseliny vyjma kyseliny glutaminové. Sledování přírůstku  $\text{NH}_2$ -kyselin v roztoku formolovou titrací bude srovnáno se stanovením alfa-aminokyselin manometrickou metodou podle Van Slykeho. Princip této metody spočívá ve stanovení dusíku, vyvinutého z alfa-aminoskupiny při reakci aminokyselin s kyselinou dusitou. Reakce ovšem není stejně specifická pro všechny aminokyseliny, dokonce i ně-

ktelé alifatické aminy reagují za podmínek metody. Důležitým faktorem však při tom je, že aminoskupiny jiných aminosloučenin než aminokyselin reagují pomaleji nebo potřebují kyslejší prostředí než aminokyseliny.

Jako doplněk a ve shodě se sovětskou normou GOST 171-51 bude prováděna i titrační kyselost ve výluhu. V tomto výsledku budou zahrnuty všechny kyseliny. Vyšší kyselost bývá většinou způsobena činností bakterií; normální kyselost se pohybuje mezi 0,1 až 0,6 ml N NaOH/10 g droždí.

Rychlé stanovení trvanlivosti droždí má velký význam pro naše droždárny, pro vedení dalších kvašení, což dosud používané metody po této stránce nedovolují.

#### Literatura

- [1] B. Engelhardt: Fermenty, Moskva 1949
- [2] V. Jonáš: Technologie drožďářství — 1, Praha 1951
- [3] H. Hahn: Biochemie der Gärungen, Berlin 1952
- [4] A. Kleinzeller, I. Málek, R. Vrba: Manometrické metody, Praha 1954.
- [5] J. Dyr: Kontrola výroby, Praha 1950.
- [6] J. Rolle: Die Verflüssigung der Hefe. Pharm. Zentralhalle (1918) 173
- [7] F. Wagner: Zusammenhänge des Vorkommens von Fremdorganismen in Presshefe mit deren Haltbarkeit, Brenner-Ztg. [1927] 1767
- [8] R. Benesch: Einige Versuche über die Haltbarkeit der Hefe, Brenner-Ztg. (1927), 1787
- [9] A. M. Malkow: Schnelle Autolyse von Hefe als Methode der Haltbarkeitsbestimmung, Brodíl'naja promyšlennost (1933) 33