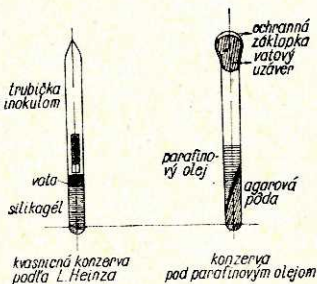


# Konzervovanie prevádzkových špeciálne droždiarenských kvasničných kmeňov

VÁCLAV STUHLÍK  
VÚPP, Bratislava

663.12/14:663.13:66.099.4

Degenerácia technických mikroorganizmov, posudzovaná z hľadiska technologického, znamená spravidla nenapraviteľnú stratu ich charakteristických vlastností pri prechovávaní v kultúre, a to najmä pre podmienok prostredia a zdrojov výživy. Veľmi chýlostivé sú v tomto smere i kvasničné kmene droždiarenské, ktoré pri nevhodnej výžive, kultivácii a prechovávaní veľmi ľahko strácajú svoje význačné vlastnosti, od ktorých závisí úspech droždiarenskej výroby. Aby sa natrvalo zachovali biologicko-enzymatické, po prípade i genetické vlastnosti kvasiniek, ako aj ich typická látková premena a s ňou súvisiaci komplex špecifických biochemických reakcií, je potrebné zvláštnym a vhodným spôsobom donútiť vegetatívne prevádzkové formy kvasničné k obmedzeniu rýchlosti životných prejavov. Prevedenie do latentného stavu a udržiavanie latentného života nie je predstaviteľné bez prítomnosti nepatrného množstva kyslíka, čiže bez zachovania dýchacích procesov charakteristických pre droždiarenské kvasinky, i keď vo veľmi obmedzenej forme. Ukázalo sa, že mnohé v technickej praxi používané živné substráty umelého zloženia



Obr. 1

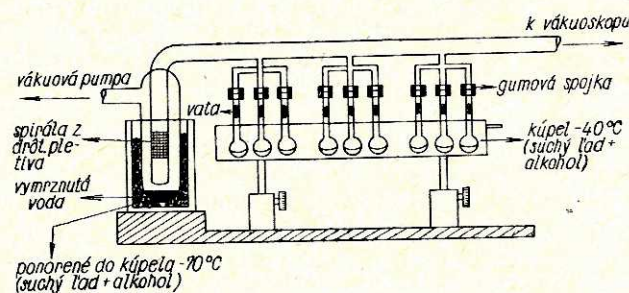
a často i kultivačné živné tekutiny pripravené z prirodzeného materiálu nie sú vždy vhodné pre dlhšie prechovávanie technických kvasničných kmeňov. Nie práve ideálnou formou pre trvalé uchovávanie biologicko-enzymatických vlastností sú povrchové kultúry na polotuhých želatínových pôdach a tým menej na pôdach agarových, ktoré sú vystavené nadmernému styku so vzduchom a ohrozené vysychaním. Normálna agarová pôda spravidla ani osmoticky nevyhovuje potrebám kvasiniek. Pri styku so vzduchom a postupným vysychaním polotuhých kultivačných agarových pôd zhoršujú sa životné pomery v povrchových kultúrach a tieto sa poškodzujú. V extrémnom prípade by sa mohlo prihodiť, že by v neprospech pôvodnej kultúry mohli získať prevahu bunky so sklonom k mutačným (genetickým) zmenám, ktoré sú prítomné v každej kvasničnej populácii. Je preto pochopiteľná snaha, že sa ustavične hľadajú nové spôsoby konzervácie a prechovávaní osvedčeného kvasničného kmeňa, aby sa zachovali jeho cenné technické vlastnosti bez oslabenia kvasničných buniek produktmi látkovej premeny.

Za určitých podmienok sa v niektorých prípadoch osvedčilo prechovávať kvasničné kultúry podľa návrhu Chr. Hansena v 10 % roztoku sacharózy v destilovanej vode. Použitím správneho množstva aktívneho inokula prechádzajú kvasničné bunky v tomto roztoku rýchle do latentného stavu.

V poslednom čase sa v mikrobiologickej praxi úspešne aplikovala t. zv. parafínová metóda, ktorú

už r. 1938 odporúčali Morton a Pulaski [1]. Prax potvrdila, že touto metódou, podľa ktorej sa dobre vyvinuté kultúry na šikmej polotuhej pôde prevrstvia čistým sterilným parafínovým olejom, možno mikroorganizmy, a najmä kvasinky, dlhý čas prechovávať v živom stave a pritom zachovať ich pôvodné vlastnosti [2] (obr. 1).

H. Fink [3] referoval o novom spôsobe konzervácie droždiarenských kvasiniek vo väčšom množstve, pri ktorej sa používajú neutrálne anorganické soli. Princíp tejto metódy je v odoberaní vody látkami, ktoré sú schopné viazať kryštalovú vodu, a v tom, že koncentrované roztoky neutrálnych solí vyzrážajú bielkoviny bez ireverzibilnej denaturácie. Keď sa odstráni soľné prostredie, obnoví sa opäť pôvodný stav. Na



Obr. 2 — Schéma lyofilizačného zariadenia

základe tohto princípu sa pri pekárskych kvasniciach s úspechom vyskúšal bezvodý síran sodný. Po prechodnom steknutí zmesi bezvodého síranu sodného (62 g) a pekárskych kvasníc (100 g) v určitom časovom intervale prebieha ako následok rekryštalizácie  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$  tuhnutie kvasničnej hmoty. Ako sa prakticky zistilo, možno túto konzervu i po dlhom čase pomerne ľahko reaktivovať opatrným ovlhčením a prenesením do živného substrátu. Stuhnutie kvasničnej hmoty pri kryštalizácii napomáha stabilizovať biologicko-enzymatické vlastnosti pekárskych kvasníc a súčasne ich vyčistiť od eventuálne prítomnej bakteriálnej mikroflóry. Táto metóda bola doteraz úspešná iba pri pekárskych kvasniciach a bola preskúšaná aj v mikrobiologickom oddelení Výskumného ústavu potravinárskeho priemyslu v Bratislave. Podľa skúseností inž. Minárika z Výskumného ústavu pre vinohradníctvo a vinárstvo Slovenskej akadémie vied sa však nehodí pro vinné kvasnice.

Dokonalou a univerzálnou metódou konzervácie mikroorganizmov by sa zdálo kryoskopické odvodňovanie, t. zv. lyofilizácia. Táto metóda, ktorá sa uplatnila pri výrobe antibiotík, vyžaduje nielen komplikované zariadenie, ale ako sa ukázalo, ani nespĺňa v každom prípade očakávaný univerzálny efekt. Nie všetky mikroorganizmy znášajú bez následkov lyofilizačný zákrok, a to kvôli svojim špecifickým vlastnostiam. Niekedy sa to prejaví tak, že sa oslabia pôvodné vlastnosti a množenie lyofilizovaných mikroorganizmov, niekedy niektoré mikroorganizmy neprežijú lyofilizačný zákrok. Ukázalo sa však aj to, že sa spomenutá metóda veľmi dobre osvedčila pri konzer-



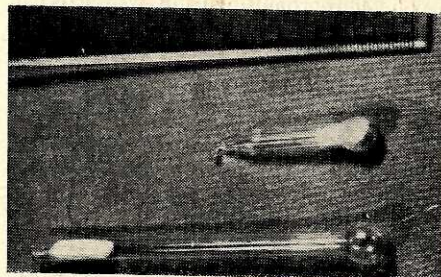
vácii kvasničných kmeňov používaných v droždiarenskej výrobe, a najmä vtedy, keď sa kvasničné bunky pred lyofilizáciou suspendovali v krvnom sére. Niektoré moderné závody na výrobu pekárskeho droždia túto metódu zaradili do svojho technologického postupu (na pr. firma Mautner vo Viedni - obr. 2 a 3).

Napriek všetkým úspechom s konzervovaním kvasničných mikroorganizmov zostáva i naďalej požiadavkom technologickej praxe, aby sa našiel jednoduchý spôsob, ktorý by spĺňal požiadavky pre praktickú jednoduchú a všeobecne aplikovateľnú konzerváciu vlastností technických mikroorganizmov a ktorý by bol dokonalejší ako doteraz používané klasické metódy.

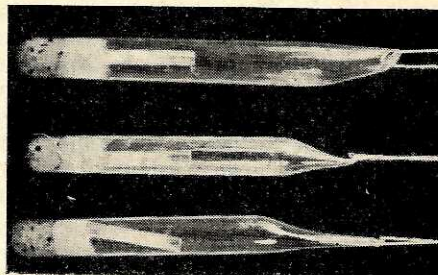
ako sa to robí pri lyofilizácii, zväčši sa odolnosť a homogenita kvasničnej konzervy. Je dôležité, aby sa pri príprave konzervy úzkostlivo dodržiavala zásada, že množstvo kvasničnej suspenzie nesmie byť príliš veľké, aby použitý vysušovací prostriedok (silikagél) stačil viazať všetkú vodu a zabezpečiť, že sa dokonale vysuší kvasničná suspenzia (obr. 4).

#### Pracovný postup

Autor používa osobitne zhotovené skúmavky dlhé 12 cm a svetlosti 5 mm; vkládaná sklená rúrka na zachytenie kvasničnej suspenzie na vatú alebo filtračný papier je dlhá 1 až 2 cm. Podľa našich skúseností



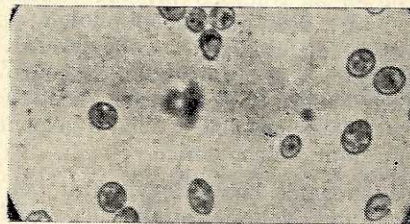
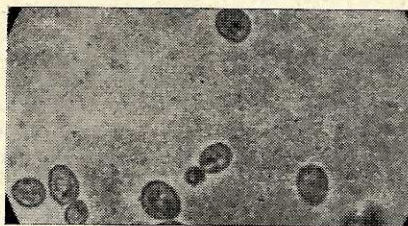
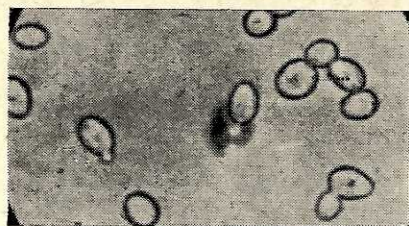
Obr. 3 (vlevo) - Lyofilizovaný prevádzkový kvasničný kmeň



Obr. 4 (vpravo) - Kvasničné konzervy podľa L. Heinza

L. Heinz [4] opísal takúto jednoduchú metódu, ktorá bola vyskúšaná špeciálne pri droždiarenských kvasinkách a ktorú možno ľahko zaviesť v každej droždiarni. Táto metóda bola prakticky preskúšaná v mikrobiologickom oddelení Výskumného ústavu potravinárskeho priemyslu v Bratislave (O. Janotková), vo Výskumnom ústave potravinárskej technológie v Prahe (inž. Trojan) a v Trenčianskej droždiarni

možno však použiť i bežné druhy skúmaviek, nie príliš veľké. Asi do výšky  $\frac{1}{4}$  skúmavky sa nasype jemnozrnné čerstvo vysušený silikagél [5] a na túto vrstvu sa pevne natlačí malá vatová zátka, aby sa vysušovadlo v rúrke nemohlo rozsypať. Potom sa vloží sklená rúrka s trochou vaty alebo s filtračným papierom. Rúrka, ktorá sa v skúmavke musí voľne pohybovať, slúži na fixovanie kvasničnej suspenzie.



Obr. 5 - Kvasinky uskladnené pri 5 °C

Obr. 6 - Kvasinky uskladnené pri 26 °C

Obr. 7 - Kvasinky uskladnené pri 37 °C

(inž. Paštka). Ukázalo sa, že sa tento spôsob konzervácie hodí nielen keď sa zasielajú čisté kvasničné kmene na väčšie vzdialenosti, ale že sa môže použiť aj ako zbierková konzervačná metóda a na prípravu zásobných konzerv pre začatie a udržiavanie výroby. Droždiarenský kvasničný kmeň používaný v Trenčianskej droždiarni bol v apríli 1954 týmto spôsobom zakonzervovaný a po 6 kusoch konzerv bolo priebehom mesiacov prechovávaných pri teplote + 5 °C, + 26 °C a + 37 °C. Výsledky kontroly, ktorá sa vykonala vo Výskumnom ústave potravinárskeho priemyslu, sú zachytené v tabuľke 1. Zo šiestich konzerv skladovaných pri + 37 °C zostali aktívne iba štyri.

Autor metódy tvrdí, že sa mu podarilo udržať kvasničné kultúry v bezchybnom stave po dobu 4 mesiacov. Naše skúsenosti však dokazujú, že to nie je maximálna hranica, lebo tieto kultúry zachovali životnú aktivitu aj po 20 mesiacoch a pri vyšších teplotách. Sme presvedčení, že suspendovaním kvasničnej usadeniny v krvnom sére podobným spôsobom,

Výhodné je vložiť do skúmavky súčasne aj úzky prúžok papiera, na ktorom je označený konzervovaný druh kvasiniek. Pomocou sklenenej tyčinky sa otvorený koniec skúmavky nad plynovým horákom vytiahne do špičky, ktorá sa zataví. V tomto stave sa pripravená skúmavka 2 hodiny sterilizuje v sušiarňe pri teplote 120 °C. Pred inokuláciou sa zatavená špička skúmavky odlomí a tenkou sklenenou kapilárkou alebo dlhou injekčnou ihlou sa zo sviežej kvasničnej usadeniny rozptýlenej v krvnom sére prikľapne malé množstvo (asi 1 platínové očko) na vatú alebo filtračný papier, ktorý je v malej sklenenej rúrke. Potom sa skúmavka opäť zataví a aspoň na 2 až 3 dni vloží do chladničky s teplotou 2 až 5 °C, aby mohol dokonale prebehnúť vysušovací proces. Po uplynutí tohto času sa konzervy prechovávali najlepšie pri teplote asi 10 °C. Nevylučuje sa však ani izbová teplota. Pred použitím sa skúmavka v hornej tretine nareže pilníčkom a po umytí alkoholom sa vrchná časť skúmavky odlomí. Sklená rúrka s vysušenou kvasničnou kultúrou, nachadzajúca sa vo vnútri skúmav-



Tabuľka 1

Konzervy		Začiatok kvasenia po prenesení do živnej sladinky	Výška vytvorenej kvasničnej usadeniny	Priemerné rozmery kvasničných buniek v $\mu$	
počet	teplota °C			d	š
6	5	42 hod	1 až 5 mm priem. 3,3 mm	6,3 až 12,5	3,8 až 9,3
6	26	42 až 186 hod priem. 95 hod	1 až 3 mm priem. 2 mm	5,8 až 10,5	5 až 10
4	37	66 hod	1 až 6 mm priem. 2,5 mm	4,0 až 6,1	4,5 až 7,4

ky, opatrne sa vpustí do Freudenreichovej banky so živnou sladinkou. Pri teplote 25 °C sa spravidla už priebehom 48 hodín prejaví aktivita kvasničnej konzervy silným kvasením.

Na základe získaných skúseností bol v Trenčianskej droždiarni a vo Výskumnom ústave potravinárskeho priemyslu v Bratislave použitý uvedený spôsob

konzervácie pri zbierkových i prevádzkových kvasničných kmeňoch určených pre dlhý transport. Veľké výhody tohto spôsobu konzervácie pre uplatnenie v droždiarskej praxi sú zrejmé. Už teraz ho možno zodpovedne odporúčať všade tam, kde sa má udržiavať štandardný prevádzkový kvasničný kmeň v pohotovosti pri zachovaní všetkých jeho technických vlastností dôležitých pre úspešnú a konštantnú výrobu (obr. 5, 6, 7).

#### Literatúra

- [1] J. Bact. 35, 163 (1938)
- [2] Schulze K. L.: Die Parafinöl-Dauerkultur bei Mikroorganismen, Brauwissenschaft, Heft 10, 161 (1951)
- [3] Das Trocknen von Mikroorganismen mit wasserfreiem Na-Sulfat als Mittel zu ihrer Konservierung, Naturwissenschaften, 42, 538 (1955)
- [4] Heinz L.: Eine Methode zur Hefekonservierung, Mitteilungen der Versuchsstation für das Gärungsgewerbe in Wien, Nr. 5/6, 1952
- [5] Inž. Vlastimil Herout: Laboratorní technika organické chemie, I, Praha 1954, 565