

# Kvartérní amoniové sloučeniny jako dezinfekční prostředky v pivovarském průmyslu

OLGA BENDOVIÁ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

663.4 : 614.484

Jednou z cest, jak zvýšit biologickou stálost piva, je správná sanitační údržba závodů, která zahrnuje pravidelné čištění s dezinfekcí provozního zařízení. K tomu je zapotřebí mít k dispozici dostatek vhodných a dokonale účinných prostředků. Vzhledem k tomu, že se v naší pivovarské praxi stále projevuje potřeba rozšířit sortiment dostupných dezinfekčních prostředků, byla obrácena pozornost na kvartérní amoniové sloučeniny a sledovány některé vlastnosti, rozhodující pro jejich praktickou upotřebitelnost.

Dezinfekční účinek kvartérních amoniových sloučenin je znám již poměrně velmi dlouho. V r. 1935 uveřejnil *Domagk* zprávu o jejich mikrobicidních vlastnostech, po níž následovaly další práce, které v zahraničí vyústily v zavedení výroby řady sloučenin tohoto typu a jejich širokou praktickou aplikaci.

Po chemické stránce se kvartérní amoniové sloučeniny vyznačují tím, že na 4 valencích N v amoniovém iontu jsou vázány organické radikály, z nichž nejméně jeden představuje dlouhý alifatický, řetězec. Aniontem je zpravidla Cl<sup>-</sup> nebo Br<sup>-</sup>. Pro stejný účinek a vlastnosti jsou do této skupiny zařazeny i sloučeniny, obsahující atom N jako součást cyklu (např. pyridiniumhalogenidy).

Mikrobicidní účinek kvartérních amoniových solí spočívá v tom, že snížením povrchového napětí roztoku se tyto sloučeniny hromadí na povrchu buněk, poškozují buněčnou blánu a radikálně zasahují do enzymového systému buněk a struktury jejich proteinů.

Jako obchodní preparáty byly nejdříve známy alkyldimetylbenzylamoniumchloridy pod značkou Zephiran, Roccal, Rodalon a později Autosept. Po-



užívaly se v USA a odtud se rozšířily do Evropy. Zde potom největšího uplatnění dosáhly známé preparáty Octozon a Polacid. Z dalších kvartérních amoniových solí je znám výrobek belgické firmy Sopura označený jako AM<sub>4</sub>, Dimanin od f. Bayer a Quartasept od Schülke a Mayer, NSR. Několik preparátů tohoto typu vyrábí také anglická firma I. C. I. (Fixanol C, Fixanol VR, Vantoc B, Vantoc A, Lissolamin A, Cirrasol OD, Cetavlon aj.).

Používání kvartérních amoniových solí k dezinfekci v pivovarské výrobě doporučují někteří autoři zejména proto, že pro značné schopnosti snižovat povrchové napětí roztoku, zvyšují tyto sloučeniny jeho smáčivost a snazší pronikání do skulin, trhlin a pórů materiálu pivovarského zařízení ve srovnání s vodou, mladinou nebo pivem [2, 8]. Jejich další předností je snadná rozpustnost, přičemž tyto roztoky jsou stále neutrální, nekorodují, nezapáchají a v používaných koncentracích nejsou toxické. Uvádí se, že ve většině případů nejlépe působí v neutrálním nebo alkalickém prostředí [5]. Lze s nimi úspěšně pracovat i při nízkých teplotách, běžných v pivovarském provozu, kdy se zpravidla používá 0,1 % roztoků. Pro dezinfekci postřikem (tanky, kádě apod.) se doporučuje event. zvýšení koncentrace na 0,15 až 0,2 %. Kvartérní amoniové sloučeniny usmrcují jak kvasinky, tak i bakterie, zatímco na viry působí v menší míře a ve vyšších koncentracích (0,5 %) se jim připisuje i fungicidní schopnost.

Nevýhodu kvartérních amoniových solí lze však vidět v tom, že reagují s bílkovinami, a proto se při nedbalé práci (nedostatečném výplachu či oplachu) mohou dostat do piva nebo do mladiny, působit zákal a snižovat pěnivost piva. Proto se jich nemá používat pro dezinfekci filtrační hmoty, která je adsorbuje, a z níž se mohou dostat do piva. Právě tak se nemají aplikovat při dezinfekci vysmolených nádob, neboť i zde mohou při vyšších koncentracích vznikat zákal. Nepříznivou vlastností řady sloučenin tohoto typu bývá pěnivost jejich roztoků. Proto jich dobře nelze používat v lahvovně. Existují však preparáty, které tuto vlastnost nemají, jako např. anglický Diometan (di-n-oktyldimetylamoniumbromid), který byl vyvinut pro aplikaci v lahvovně jako přísada k alkalickým mycím roztokům [1].

Kvartérní amoniové sloučeniny lze kombinovat s neionogenními detergentními činidly, chlornany nebo formaldehydem. Uvádí se i možnost jejich kombinace s 0,25 až 0,5 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> k odstraňování kvasničných usazenin výplachem míst, která jsou obtížně přístupná mechanickými prostředky [10]. Jejich účinek se nesnižuje ani po předcházejícím použití mycích roztoků, obsahujících Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, sodu nebo borax. Nelze je však mísit s anionickými detergenty, mýdly, fosfolipidy, jódem apod. Některé z nich nesnášejí přítomnost vyšších koncentrací alkalí a fosfátů. Z těchto důvodů je třeba umyté povrchy dobře oplachovat.

Výběr metody pro laboratorní zkoušky s několika preparáty kvartérních amoniových solí byl proveden z hlediska možnosti kvantitativního hodnocení výsledků z řady sériových zkoušek. Z tohoto důvodu bylo ve většině případů k testování použito pivovarských kulturních kvasinek, i když se uvádí, že

jsou vůči dezinfekčním prostředkům méně rezistentní než pivovarské infekční mikroorganismy zejména pediokoky a laktobacily [9]. Pochopitelně bylo v rámci těchto zkoušek provedeno i sledování účinku různých preparátů na zástupce těchto mikroorganismů.

Při práci se postupovalo tak, že vždy 0,1 ml promyté suspenze testovacího mikroorganismu bylo převedeno do 5 ml dezinfekčního roztoku, vytemperovaného na teplotu 3 až 5 °C (pokud není uvedeno jinak). Po 5minutovém působení byla převedena vždy 1 klička roztoku do 0,5 ml sterilní vody v Petriho misce a přelita živnou půdou. Po skončení inkubace se počítaly vyvinuté kolonie. Současně se vždy prováděl kontrolní pokus s použitím sterilní vody místo dezinfekčního roztoku. Dezinfekční účinek (dále DU) vyjadřuje procento odumřelých buněk z celkového počtu zaočkovaných jedinců.

K testování se použilo kmenů *Sacch. carlsbergensis* (P<sub>30</sub>), *Sacch. pastorianus* (Spk<sub>87</sub>), *Hansenula anomala* (Spk<sub>12</sub>), *Penicillium* sp., *Escherichia coli* (sbírkový kmen KU), izolátu coliformních tyčinek z piva a směsi mikroorganismů z pивní sedliny, obsahující pediokoky, laktobacily a kvasinky. Mikrobiální suspenze byly připraveny vždy tak, aby počty zárodků v kontrolním testu byly u kvasinek asi 1 · 10<sup>3</sup>, u bakterií 3 až 4 · 10<sup>3</sup> a u plísní 3 · 10<sup>2</sup>. Kvasinky byly pěstovány na mladinovém agar, plíseň na sladinovém agaru a coliformní bakterie na bujónagaru. Vývin směsi pediokoků, laktobacilů a kvasinek byl sledován v půdě upravené podle *Stockhausen* [7].

Výsledky z celé řady zkoušek jsou uvedeny pouze v omezeném počtu. V první řadě bylo provedeno srovnání dezinfekčního účinku 5 vzorků kvartérních amoniových solí: cetyldimetylfenylamoniumbromidu (CDFAB), cetylpyridiniumbromidu (CP), cetyltrime-

Tabulka 1  
Dezinfekční účinek některých typů kvartérních amoniových sloučenin

Koncentrace v %	Dezinfekční účinek		
	CM	CP	CDFAB
0,002	100	100	100
0,0015	100	99	98
0,001	99	94	98
0,0005	84	87	90
0,0001	0	0	0

Tabulka 2

Koncentrace v %	Dezinfekční účinek	
	O	P
0,02	100	100
0,015	100	99
0,01	94	91
0,005	0	0

Tabulka 3

Vliv teploty na dezinfekční účinek CDFAB

Koncentrace v %	Dezinfekční účinek		
	3°	10°	22°
0,001	95	99	95
0,0005	92	96	85
0,0002	0	47	82



tylamoniumbromidu (CM), Octozonu (O) a Polacidu (P) tabulka 1 a 2.

Z uvedených hodnot je zřejmé, že v laboratorních podmínkách lze počítat se 100% účinkem na použitý testovací mikroorganismus ( $P_{30}$ ) u preparátů CDFAB,

Tabulka 4

Vliv pH na dezinfekční účinek CDFAB  
(0,0015 % konc.)

Teplota	Dezinfekční účinek			
	pH 5	pH 6	pH 6,7	pH 8
3°	97	96	99	99
25°	100	99	100	97

Tabulka 5

Vliv přítomnosti organických látek bílkovinného charakteru na snížení dezinfekčního účinku CDFAB

Koncentrace v %	Dezinfekční prostředek
0,002	76
0,0015	62
0,001	41
0,0005	7

Tabulka 6

Vliv obsahu solí ve vodě na dezinfekční účinek kvartérních amoniových solí

Vzorek	Dezinfekční účinek		
	dest. voda	voda s 12°n	voda s 42°n
CM	100	98	98
CP	100	98	100
CDFAB	100	100	100

Tabulka 7

Dezinfekční účinky kvartérních amoniových solí na divoké a křisovité kvasinky

Preparát	Koncentrace v %	Dezinfekční účinek	
		Spk 12	Spk 67
CDFAB	0,002	100	100
CM	0,002	91	100
CP	0,002	95	100
O	0,02	100	100
P	0,02	100	100

Tabulka 8

Dezinfekční účinek kvartérních amoniových solí na plísň

Preparát	Koncentrace v %	Dezinfekční účinek	
		5 minut	2 hodiny
CDFAB	0,5	48	99
CM	0,5	79	100
CP	0,5	73	99

Tabulka 9

Dezinfekční účinek kvartérních amoniových solí na bakterie *Coli-aerogenes*

Kmen	Koncentrace v %	Dezinfekční účinek				
		CDFAB	CM	CP	O	P
<i>E. coli</i> KU	0,002	100	70	98	—	—
	0,005	100	80	99	—	—
	0,05	—	—	—	100	100
Izolát z piva	0,002	71	32	40	—	—
	0,005	100	95	99	—	—
	0,05	—	—	—	99	99

Tabulka 10

Dezinfekční účinek kvartérních amoniových solí na směs mikroorganismů

Preparát	Koncentrace v %	Dezinfekční účinek		
		kvasinky	laktobacily	pediokoky
CDFAB	0,002	(+)	++	++
	0,005	—	—	—
	0,01	—	—	—
CP	0,002	(+)	++	++
	0,005	—	—	—
	0,01	—	—	—
CM	0,002	+	++	++
	0,005	—	—	—
O	0,02	(+)	+	(+)
	0,01	—	—	—
P	0,02	(+)	(+)	(+)
	0,01	—	—	—
Kontrola		pediokoky,	laktobacily,	kvasinky

CM a CP v konc. 1 : 50 000 a u Octozonu a Polacidu v konc. 1 : 5000.

Vzhledem k tomu, že se kvartérním amoniovým solím často přisuzuje při nižších teplotách, jakož i v souvislosti s pH roztoku nižší účinnost, byly sledovány rovněž tyto faktory (tabulka 3, 4).

Z tabulky 3 je patrné, že se zvýšení teploty roztoku projevilo vyšším dezinfekčním účinkem pouze v případě nejnižší zkoušené koncentrace. Podobné výsledky byly získány i z dalších zkoušek, avšak celkově svědčí o tom, že v uvedeném rozmezí je vliv teploty dosti kolísavý. Přesto však je třeba v soulase s údaji odborné literatury s ním počítat a také laboratorní zkoušky provádět vždy při nízkých teplotách. Z tabulky 4 je vidět, že ve zkoušeném rozmezí není DU prakticky ovlivněno různými hodnotami pH. Toto zjištění potvrzené dalšími zkouškami je v rozporu s údaji některých autorů, kteří tvrdí, že účinnost většiny sloučenin tohoto typu je v kyselém prostředí podstatně nižší než v neutrálním nebo alkalickém [4, 8]. Lze však předpokládat, že tento závěr vyplynul ze zkoušek při pH nižším než 5, jako tomu bylo např. u Jakobsona [6].

Tabulka 5 ukazuje výsledek jedné ze zkoušek, jimiž byl sledován vliv přítomnosti organických látek bílkovinného charakteru na dezinfekční účinek kvartérních amoniových solí, a to vždy přidáním 10 obj. % mladiny (10°) k roztoku CDFAB. Tento přírůstek se projevil podstatným snížením DU a potvrdila se tak známá skutečnost, že organické látky bílkovinného charakteru mají na dezinfekční účinnost roztoků negativní vliv, a že je tudíž třeba, aby dezinfekce byla prováděna vždy po důkladném čištění.

V odborné literatuře existují různé odlišné názory na vliv tvrdosti vody na účinek kvartérních amoniových sloučenin [4, 8]. Z výsledku provedené zkoušky (tabulka 6) lze však soudit, že tvrdost vody nemá v tomto směru nepříznivý vliv na DU uvedených preparátů.

Cílem dalších zkoušek bylo vyšetřit dezinfekční účinek kvartérních amoniových sloučenin na některé druhy pivovarských mikroorganismů. Byly to především zástupci tzv. pivovarských infekčních



mikroorganismů — divoké kvasinky, laktobacily a pediokoky a vedle nich zástupci coliformních bakterií, křísovitých kvasinek a plísní. Výsledky uvádějí tabulky 7 až 10.

Z tabulek 7 až 10 je vidět, že zkoušené kvartérní sloučeniny mají stejný dezinfekční účinek na zástupce divokých a křísovitých kvasinek jako na kulturní kvasinky. Při zkouškách s bakteriemi skupiny *Coli-aerogenes* byly zřejmě rozdíly jak v účinku jednotlivých sloučenin tak i obou testovaných kmenů, z nichž se jako rezistentnější projevil kmen izolovaný z piva ve srovnání s kmenem sbírkovým. Ukázalo se, že k potlačení pediokoků a laktobacilů je za uvedených laboratorních podmínek zapotřebí koncentrace 0,005 %. Kvartérní amoniové sloučeniny působí i na spory plísní, avšak v podstatně vyšší koncentraci (0,5 %) a při delší době účinku.

V druhé etapě zkoušek, navazující na laboratorní šetření, byly provedeny zkoušky provozní, při nichž byly dezinfikovány jednak hadice a jednak potrubí. Koncentrace použitých preparátů byly podstatně vyšší než při laboratorních pokusech, protože je známo, že při těchto zkouškách dezinfekční roztok působí na suspenzi mikroorganismů, zatímco při praktické aplikaci musí účinkovat nejen na mikroorganismy usazené na dezinfikovaném povrchu, nýbrž mnohdy musí pronikat i do skulin a pórů a vyplavovat usazené mikroby, které teprve potom jsou suspendovány a vystaveny účinku dezinfekčního roztoku. V těchto zkouškách se při nízkém stupni znečištění osvědčily poměrně nízké koncentrace, a to 0,005 % až 0,05 %, zatímco při silnějším znečištění je nutno pracovat s 0,1 % koncentrací. Tyto praktické zkoušky budou předmětem dalšího sdělení.

#### ПРИМЕНЕНИЕ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЧЕСТВЕ ДЕЗИНФЕКЦИОН- НЫХ СРЕДСТВ НА ПИВОВАРЕН- НЫХ ЗАВОДАХ

В статье приводятся результаты экспериментов по использованию четвертичных аммониевых соединений в качестве дезинфекционных средств в разных условиях, типичных для пивоваренных заводов.

#### QUARTÄRE AMMONIUMVERBINDUN- GEN ALS DESINFEKTIONSMITTEL IN DER BRAUINDUSTRIE

In dem Artikel werden die Ergebnisse der Versuche mit quartären Ammoniumverbindungen angeführt. Der Ziel der Versuchsreihe war die Feststellung des Desinfektionseffektes dieser Verbindungen unter verschiedenen Betriebsbedingungen.

Na základě výsledků provedeného šetření lze kvartérné amoniové soli považovat za dobré neutrální dezinfekční prostředky, které by mohly po zavedení výroby obohatit sortiment preparátů pro potřeby pivovarské praxe.

#### Souhrn

Během sledování vlastností několika vzorků kvartérních amoniových sloučenin, bylo zjištěno, že tyto preparáty dobře účinkují za nízké teploty na kvasinky, laktobacily, pediokoky a coliformní bakterie v poměrně nízkých koncentracích. Potlačení plísní vyžaduje vyšších koncentrací a delší doby účinku. Vliv pH roztoku ve zkoumaném rozmezí, jakož i tvrdost vody nemají na dezinfekční účinek těchto sloučenin podstatný vliv. Výsledky laboratorních zkoušek byly ověřovány i provozně.

#### Literatura

- [1] Beattie G. B.: British Bottle Washing Methods, Machinery and Control Systems. Wall. Lab. Commun. 15, 225 (1952).
- [2] De Clerck J.: Kvartérní sloučeniny jako antiseptika s pronikavým účinkem. L'Echo de la Brasserie 5, 1093 (1949).
- [3] Domagk G.: Eine neue Klasse von Desinfektionsmitteln; Deutsche Medizinische Wochenschrift 61, 829 (1935).
- [4] Dunn C. C.: Sanitation in the Food Industries with Special Reference to Chemical Cleaners and Sanitizers. Wall. Lab. Commun. 13, 121 (1950).
- [5] Glasmann H.: Surface Active Agents and their Application in Bacteriology. Bact. Rev. 12, 105 (1948).
- [6] Jacobson B.: Über die Bewertung der quaternären Ammoniumverbindungen als Desinfektionsmittel in der Brauindustrie, Brauwelt 95, 647 (1955).
- [7] Lhotský A.: Technická kontrola sladařské a pivovarské výroby, Praha SNTL 1957.
- [8] Nowack G.: Oberflächenaktive Desinfektions- und Reinigungsmittel in der Brauerei. Brauwelt 101, 1309 (1961).
- [9] Schnegg H.: Die Desinfektionstechnik im Brauereibetrieb. H. Carl, Nürnberg 1961.
- [10] Urquart W. B.: Use of Cold Detergents for Cleaning Enclosed Beer-containing Systems; J. Inst. Brew. 61, 90 (1955).
- [11] Závěrečná zpráva VÚPS za r. 1962.

Došlo do redakce 3. 4. 1963.

#### QUARTERNAL AMMONIUM COMPOUNDS AS DISINFECTANTS FOR BREWERIES

The article deals with the results of experiments with quarternal ammonium compounds, which were tested under various conditions to determine their disinfecting properties.