

Z NÁPOJOVÉHO PRŮMYSLU



Ultrafiltry Synthesia při mikrobiologické kontrole sodovkárenské výroby

MILOŠ MERGL, Výzkumný ústav mlékárenský, Praha a

LUĐKA NOVÁKOVÁ, Výzkumné a vývojové středisko n. p. Pražské cukrárny a sodovkárny, Praha 663.642 : 576.8.07

Mikrobiologickým rozbořem sodovek, limonád a surovin k jejich výrobě, se zabývali četní autoři [1 až 6]. Podle *Dvořáka* a *Bryndače* [1] u sodovek a limonád převládají závady mikrobiologického rázu nad závadami chemickými, přitom koliformní zárodky byly příčinou závad u menšího počtu vzorků než vyšší počet mikrobů. Mikrobiální závady se přičítají jednak nedostatečnému mytí lahví, jednak druhotnému znečištění již mytých lahví ne dosti čistýma rukama zaměstnanců.

Jen malé množství vzorků sirupů bývá mikrobiologicky závadné. Vysoký obsah cukru zpravidla postačuje k dokonalé konzervaci a pouze ojediněle může příliš pomnožená mikroflora přemoci konzervační účinek cukru.

U vzorků vod před filtrem jde pouze o ojedinělé mikrobiální závady, způsobené náhodným znečištěním ve vedení vody. Poměrně více mikrobiálních závad bylo zjištěno ve vzorcích vod za filtrem. Tyto závady poukazují na nedostatečně čisté, resp. ne dosti často vyměňované nebo čištěné filtry.

Hampl [2] se rovněž zabýval mikrobiologickým vyšetřením nápojů sycených CO₂ a zjistil, že 32 % z vyšetřovaných sodovek neodpovídalo příslušným předpisům. Analyzoval 47 vzorků sodovek přímo z obchodní sítě (v různých místech ČSSR). Podle jeho výsledků obsahovalo 13 sodovek bakterie skupiny *coli-aerogenes*, 2 vzorky značný počet bakterií *paracoli*, 8 vzorků mělo závadné chemické složení. Přehledné shrnutí výsledků (počet mikrobů v 1 ml vzorku) podle *Hamply* ukazuje *tabulka 1*.

Tabulka 1

| Vzorků | Mikrobů |
|--------|----------------|
| 16 | 1 až 100 |
| 12 | 101 až 500 |
| 4 | 501 až 1000 |
| 5 | 1001 až 5000 |
| 3 | 5001 až 10000 |
| 7 | více než 10000 |

Vintika [3] potvrzuje *Hamplovy* nálezy, dokonce počet znečištěných vzorků je ještě vyšší. Při mikrobiologických rozbořech limonád zjistil ve velkém počtu kvasinky, z nichž se nejvíce vyskytovaly *Saccharomycety* a *Mycodermy*. Plísň se vyskytovalo poměrně málo. *Mycodermy* se projevovaly při

zkouškách trvanlivosti vzorků tvorbou povrchových blanek. Kultivační výsledky na BHM-agaru a na DPA-agaru (Difco-agar s dextrózou a proteózou) ukázaly, že kvasinky nemusí být jediným mikrobem, který se v limonádách vyskytuje ve větším měřítku. *Vintikovy* rozbořby potvrdily, že největší závadou je nedokonalá sanitace provozoven.

Nováková [4] se zabývala systematickým průzkumem sodovkárenské výroby a zjišťovala hlavní příčiny snížení trvanlivosti limonád. Sledovala:

- a) mikrofloru surovin pro výrobu limonád (sukusy, sirupy, vodu),
- b) zdroje reinfekce při výrobě (stroje, povrchová mikroflora),
- c) mycí a dezinfekční účinek myček lahví (Nama, Delta),
- d) mikrofloru vzduchu ve výrobě.

Rozbořby provedla klasickými vyšetřovacími metodami (kultivace na plotnách).

Mašínová a *Šácha* [5] použili u nás poprvé metody membránových filtrů při kontrole bakteriologické čistoty vod (včetně vodárenských a minerálních) a některých potravinářských výrobků. Při filtracích použili zahraničních membránových filtrů (sovětských a německých — Membranfilter typ CO 5); aparaturu tvořil filtr, vyrobený firmou Membranfiltergesellschaft Göttingen NSR. Při stanovení koliformní mikroflory použili k inkubaci membránových filtrů Endo-agaru (se zvýšeným obsahem základního fuchsinu: 0,75 g na 1000 ml půdy); inkubovali 16 až 18 hodin při 37 °C. Jejich výsledky (uvedené zkráceně v *tabulce 2*) dokázaly přednosti filtrační metody (ve srovnání s metodou *Ficker-Partišovou*), a to zpřesněním dosažených hodnot a možností průkazu koliformní mikroflory, i když se tato vyskytuje ojediněle.

Vyšetřením minerálních vod, limonád a ovocných šťáv metodou membránových filtrů se souborně zabýval *Damm* [6].

Raška [7] doporučuje před filtrací odstranit z nápojů obsahující CO₂ probubláním sterilní pipetou. U minerálních vod je nutné filtrovat vzorek nejdéle do dvou hodin po otevření láhve, aby se zabránilo

Tabulka 2

Vyšetření vodárenských a minerálních vod metodou membránových filtrů (podle Mašinové a Šachy)

| Druh vody | E. coli | | | | Index coli | |
|------------|---------------------------|-----------------------|-------|--------|---------------------|------------------|
| | koncentrační metoda 40 ml | filtrační metoda (MF) | | | koncentrační metoda | filtrační metoda |
| | | 10 ml | 40 ml | 100 ml | | |
| Vodárenská | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 10 |
| | 1 | 0 | 2 | 10 | 25 | 50 |
| Minerální | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 60 |
| | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 40 |
| | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 0 | 2 | 2 | 50 | 50 |
| | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 20 |
| | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

vypadávání solí z roztoku. Tyto sole mohou při filtraci ucpávat póry membrán a zamezit tak filtraci většího objemu, resp. dobrému vývinu příslušných mikrobiálních kolonií.

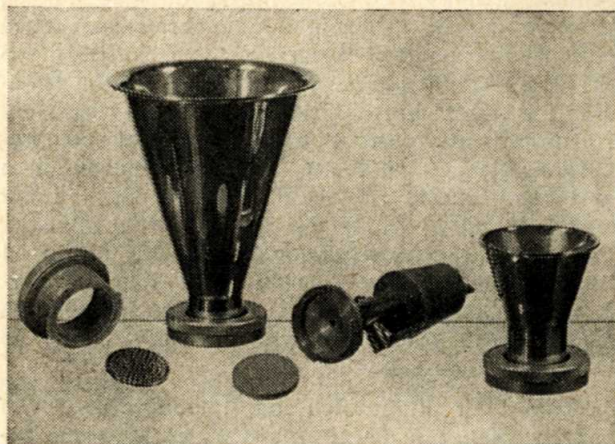
V četných případech je nutné pro zdárný průběh filtrace použít tzv. „předfiltrace“ (membránového) filtru s větším průměrem pórů — obr. 1 a 2), která zachytí hrubé mechanické příměsi (např. u sukusů) a oddělí je od mikroorganismů, které se zachytí na membránovém filtru odpovídající pórovitostí. Předfiltr se však po ukončené filtraci rovněž inkubuje [MFI [8], Mergl [9]], aby se eliminovala chyba, vzniklá zachycením některých mikrobů na předfiltru.

Metody membránových filtrů se v nápojovém průmyslu použilo při stanovení:

- účinnosti mytí lahví,
- mikroflory sodovek,
- mikroflory limonád,
- mikroflory sukusů a sirupů.

Materiál a metodika

Vyšetřované vzorky (výplachy) se filtrovaly na čs. filtrační aparatuře „Prema 50“ (obr. 3) a německé „Coli 5“ (obr. 1). Ve všech případech se filtrovalo za sníženého tlaku (vodní vývěva). Po-

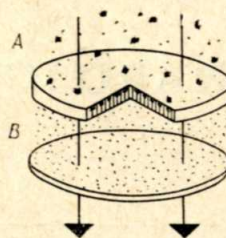


Obr. 1. Jednotlivé části kovové filtrační aparatury (výrobce Membranfiltergesellschaft, Göttingen, NSR)

od leva: nástavec pro předfiltraci, nálevka (obsah 1000 ml), kovová filtrační podložka pro předfiltraci, spodní díl filtrační aparatury, nálevka (obsah 200 ml)

Obr. 2. Schéma předfiltrace a filtrace

A — předfiltr (PUFS); B — UFS (obvykle HUFs k zachycení mikroorganismů); šipky znázorňují směr filtrace, velké tečky mechanické příměsi, malé — mikroorganismy



užilo se těchto ultrafiltrů (membránových filtrů):

HUFS, Ø 50 mm, střední velikost pórů 0,4 µ,

AUFS, Ø 50 mm, střední velikost pórů 0,85 µ,

PUFS, Ø 50 mm, maximální velikost pórů 5,0 µ,

Filtry se před použitím sterilovaly dvojnásobným vyvařením v destilované vodě. Filtrační aparatury

Tabulka 3

Použité živné půdy, inkubační teploty a doby, UFS

| Mikroflora | Inkubace | | Půda | UFS | (hodin) |
|--------------|----------|-------|---------------------|------|---------|
| | °C | hodin | | | |
| Psychrofilní | 20 | 72 | maso-peptonový agar | HUFS | 48—72 |
| Mesofilní | 37 | 48 | maso-peptonový agar | HUFS | 36—48 |
| Kvasinky | 20 | 72 | sladinový agar | AUFS | 48—72 |
| Plísňe | 20 | 7 dnů | sladinový agar | AUFS | 48—96 |
| | | | | | |
| Koliformní | 37 | 24 | Endův agar | HUFS | 18—22 |

Poznámka: Kontrolní (plotnové) rozborby byly provedeny na půdách s obsahem agaru 2 %, kultivace UFS probíhala na půdách shodného složení se sníženým obsahem agaru na 1 %.

se sterilovaly vyvařením, autoklávováním anebo vypálením přímým plamenem. Inkubovalo se na běžných půdách. Tabulka 3 uvádí typy půd, čas a teplotu inkubace. Kontrolní rozborby se provedly plotnovou metodou v těch případech, kdy množství vzorku nepřesahovalo 1 ml (resp. jeho příslušné ředění).

Experimentální část

a) Stanovení účinnosti mytí lahví

Zkoušené láhve se po vyjití z myčky (Nama) naplnily 100 ml sterilního fyziologického roztoku, uzavřely sterilní gumovou zátkou a po dobu ½ minuty se jimi intenzívně všemi směry třepalo. Přímou

Tabulka 4

Stanovení mikrobiální čistoty lahví

(myčka Nama, sodovkové láhve, teplota lázně v myčce 59 °C, alkalita pH 14, výplach proveden 100 ml sterilního fyz. roztoku)

| Číslo láhve | Počet mikrobů | | | Koliformní | | Klasifikace čistoty |
|-------------|-----------------------|-----------|------------|------------|------------|---------------------|
| | 1 ml kontrolní rozbor | 1 ml HUFs | 10 ml HUFs | 10 ml HUFs | 50 ml HUFs | |
| 1 | 2 | 3 | 13 | 0 | 0 | II. |
| 2 | 2 | 2 | 16 | 0 | 0 | II. |
| 3 | 1 | — | 10 | 0 | 0 | II. |
| 4 | 1 | — | 14 | 0 | 0 | II. |
| 5 | 2 | — | 37 | 0 | 0 | II. |
| 6 | 3 | — | 15 | 0 | 0 | II. |
| 7 | 6 | 3 | 22 | 0 | 0 | II. |
| 8 | 3 | — | 39 | 0 | 0 | III. |
| 9 | 4 | — | 22 | 0 | 0 | II. |
| 10 | 3 | 4 | 25 | 0 | 0 | II. |

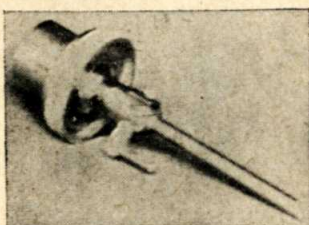
Poznámka: Klasifikace čistoty (počet mikrobů v 1 láhvi): I. velmi dobrá do 60; II. dobrá od 60 do 300; III. dostatečná od 300 do 900; IV. nedostatečná nad 900

Tabulka 5

a) Stanovení mikroflory sodovek

| Číslo vzorku | Psychrofilní | | Mesofilní | | | Kvasinky | | Plísňe | | Koli-formní | ml |
|--------------|--------------|-----|-----------|-----|-----|----------|----|--------|----|-------------|-----|
| | 1 | 0,1 | 10 | 1 | 0,1 | 100 | 10 | 100 | 10 | | |
| 1 | 65 | 8 | 159 | 11 | 2 | 18 | 2 | 12 | 1 | 2 | UFS |
| | 28 | 6 | — | 17 | 2 | — | — | — | — | — | K |
| 2 | 184 | 28 | př. | 145 | 15 | 22 | 4 | 21 | 2 | 5 | UFS |
| | 170 | 16 | — | 150 | 20 | — | — | — | — | — | K |
| 3 | 18 | — | 103 | 12 | 1 | 3 | — | 1 | — | 0 | UFS |
| | 16 | 2 | — | 7 | 2 | — | — | — | — | — | K |
| 4 | 23 | — | 106 | 15 | — | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | UFS |
| | 21 | — | — | 18 | 2 | — | — | — | — | — | K |
| 5 | 31 | 5 | př. | 127 | — | 9 | 1 | 0 | 0 | 0 | UFS |
| | 38 | 7 | — | 142 | — | — | — | — | — | — | K |

Poznámka: UFS — rozbor filtrací,
K — kontrolní rozbor plotnový



Obr. 3. Filtrační
aparatura čs. výroby
(Prema, n. p., Brno)

z lahví se odebíral vzorek výplachu k filtraci (plotnovému rozboru). Dosažené výsledky (tabulka 4) ukazují, že dodržením předepsané alkality mycích roztoků a jejich teplot okolo 60 °C lze dosáhnout velice dobrých výsledků (koliformní mikroflora nebyla prokázána ani v 50 ml vyšetřovaných výplachů). Filtrační metoda umožňuje v těchto případech stanovit podstatně zpřesněné mikrobiologické vyšetření, tj. umožňuje filtraci větších objemů výplachů.

b) Stanovení mikroflory sodovek

Stanovila se mikroflora sodovek (filtrační i plotnovou metodou) odebraných přímo po výrobě anebo z maloobchodní sítě (tabulka 5a, b). Filtrační meto-

Tabulka 6

Stanovení mikroflory limonád

| Druh a č. vzorku | Psycho-filní | | Meso-filní | | Kva-sinky | | Plísňe | | Koli-formní | | ml |
|------------------|--------------|----------|------------|-----|-----------|----|--------|---|-------------|-----|-----|
| | 1 | 0,1 | 1 | 0,1 | 10 | 1 | 10 | 1 | 10 | 1 | |
| 1 kofola | př. 67 | př. 71 | př. 14 | 12 | 3 | 4 | 0 | 0 | UFS | | |
| | př. 72 | (400) 44 | 203 | 21 | — | 3 | — | 0 | K | | |
| 2 kofola | 81 | 12 | 64 | 9 | př. 48 | 3 | 0 | 0 | 0 | UFS | |
| | 70 | 6 | 88 | 12 | — | 39 | — | 0 | — | 0 | K |
| 3 pomo | 36 | — | 7 | — | 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | UFS | |
| | 41 | 5 | 12 | 2 | — | 3 | — | 0 | — | 0 | K |
| 4 pomo | 92 | 12 | 40 | — | 12 | 3 | 0 | 0 | 2 | 0 | UFS |
| | 83 | 11 | 32 | 4 | — | 3 | — | 0 | — | 0 | K |

Poznámka: UFS — rozbor filtrací; K — kontrolní plotnový rozbor; 400 — výsledek pouze přibližný; př — přerostlé.

Tabulka 7

Stanovení kvasinek a plísni kombinovanou metodou

(předfiltrace a filtrace vzorku; stanovení kvasinek a plísni v sirupu a sukusu)

| Druh a č. vzorku | Kvasinky | | | | | | Plísňe | | | | | |
|---------------------|----------|-----|------|-----|-------|-------|--------|-----|------|-----|-------|-------|
| | AUFS | | PUFS | | AUFS | | AUFS | | PUFS | | AUFS | |
| | 0,1 | 0,1 | 1,0 | 1,0 | 10 | 10 | 0,1 | 0,1 | 1,0 | 1,0 | 10 | 10 |
| 1 kofola | 9 | 11 | 76 | 59 | př. | př. | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 6 |
| 2 jablečný sukus | 3 | 0 | 13 | 4 | nest. | nest. | 0 | 1 | 5 | 4 | nest. | nest. |

b) Stanovení koliformní
mikroflory v sodovkách

| Číslo vzorku | Koliformní |
|--------------|------------|
| 1 | 5 |
| 2 | 8 |
| 3 | 0 |
| 4 | 2 |
| 5 | 0 |
| 6 | 0 |
| 7 | 2 |
| 8 | 29 |
| 9 | 1 |
| 10 | 0 |

Poznámka: (Filtrace celého objemu, tj. asi 500 ml sodové vody přes HUFs)

da umožnila průkaz kvasinek, plísni a koliformní mikroflory i v těch případech, kdy klasický rozbor je neproveditelný. Z 15 vzorků byla filtrací prokázána nežádoucí koliformní mikroflora v asi 8 vzorcích.

c) Stanovení mikroflory limonád

Přednosti filtrační metody byly zřejmé ve všech případech průkazu plísni a koliformních bakterií, kdy plotnová metoda byla neproveditelná (tabulka 6, vzorky 1 až 4). V těch případech, kdy je nutné vzhledem k početnému zastoupení mikroflory filtrovat malá množství vzorku, vhodnost filtrační metody klesá ve srovnání s klasickým plotnovým rozbohem. Oba typy stanovení se v takových případech provedly pouze s ohledem na srovnatelnost dosažených výsledků (kvantita).

d) Stanovení mikroflory sukusů a sirupů

Orientačně se prověřovala metoda tzv. „předfiltrace“ (PUFS), která umožňuje stanovit mikroorganismy i v takových případech, kdy jinak intenzivní zanášení membránových filtrů mechanickými látkami (např. rostlinnými zbytky) znemožňuje samu filtraci (event. kultivační vyšetření). Kultivován byl vždy předfiltr (PUFS) spolu s mikrobiálním filtrem (AUFS), aby byla eliminována experimentální chyba, vzniklá sorbcí mikrobů na předfiltru. Stanovení se provedlo u borůvkového sukusu a sirupu kofola. Výsledky uvádí tabulka 7.

Závěr

Filtrační metoda ultrafiltry Synthesia je vhodná ve všech případech stanovení, kdy je nutné vyšetřit větší množství vzorků (filtrátů), resp. kdy vzorek obsahuje velmi malá množství sledovaných mikro-

organismů. Jde především o stanovení koliformní mikroflory v sodovkách a limonádách, jakož i o sledování funkce mycích strojů a zjišťování plísní kultivací na UFS.

Tato filtrační metoda je tedy dalším cenným doplňkem mikrobiologických vyšetřovacích metod v nápojovém průmyslu a zasluhuje další rozšíření a praktické využití v denní bakteriologické kontrole provozů, výrobků a surovin.

Literatura

[1] Dvořák, J. - Bryndač, J.: Sodové vody a limonády v Praze,

ПРИМЕНЕНИЕ УЛЬТРАФИЛЬТРОВ СИНТЕЗИЯ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ НА ФАБРИКАХ СОДОВОЙ ВОДЫ

В статье показываются возможности применения мембранных фильтров на фабриках напитков для контроля эффективности мойки бутылок, определения микрофлоры в содовой воде и лимонадах, отжатом соке и сиропах итд. Из анализа специфики рассматриваемого фильтрационного метода выводится заключение о целесообразности его использования в случаях, где требуется контроль значительного количества фильтра-та.

DIE ULTRAFILTER SYNTHESIS IN DER MIKROBIOLOGISCHEN KONTROLLE DER SODAWASSERPRODUKTION

Die Membranfiltermethode wird in der Getränkeindustrie zur Bestimmung der Wirksamkeit der Flaschenwäsche, der Mikroflora in Sodawasser, Limonade, Fruchtkonzentrat und Sirup appliziert. Aus der Beschreibung des Materials und der Methodik sowie auch aus der Bewertung der Methode ergibt sich der Schluss, dass die Filtrationsmethode überall geeignet ist, wo es sich um die Untersuchung grösserer Filtratmengen handelt.

jejich výroba a jakost v letech 1953—56 z hlediska hygienického. Zpráva odd. hygieny výživy HES — ÚNV, 1957.

- [2] Hampl, B.: dtto.
[3] Vintika, J.: Příspěvek k mikrobiologickému zkoušení limonád. [Určeno pro vnitřní potřebu].
[4] Nováková, L.: Mikrobiologický průzkum sodovkárenské výroby. — „Kvasný průmysl“, 10, 1964: 134.
[5] Mašínová, L. - Šácha, F.: Bakteriologická kontrola vod a některých jiných potravinářských výrobků membránovými filtry. — „Průmysl potravin“, 8, 1957: 36.
[6] Damm, H.: Die Infektionen bei der Herstellung von Fruchtsaftgetränken bzw. Limonaden und ihre Vermeidung. — „Der Naturbrunnen“, 10, 1960: 275.
[7] Raška, K. a kol.: Mikrobiologické vyšetřovací metody. SZN, Praha 1958.
[8] Mergl, M.: Membránové filtry a jejich použití v potravinářské mikrobiologii, STI - MPP, Praha 1963.
[9] M F I: Firemní literatura (Membranfilter - Göttingen, 1955 — 1964).

Došlo do redakce 5. 11. 1964.

APPLICATION OF THE SYNTHESIS ULTRAFILTERS AT SODA WATER FACTORIES FOR MICROBIOLOGICAL INSPECTION

The membrane filters can be employed in beverage industry for checking the efficiency of bottle washing installations, checking soda water and lemonades for the presence of microflora, checking contamination of squashes and syrups etc. The specific features of the method make it very suitable for applications, where substantial quantities of filtrate must be examined.