

## Problematika technologicky nežádoucích mikroorganismů v pivovarském průmyslu

OLGA BENDOŤÁ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

663.4 : 578.8

Na biologickou trvanlivost piva mohou mít vliv různé druhy mikroorganismů, jež se v průběhu výroby dostaly do piva. Tyto zárodky buď v pivě pouze více či méně přežívají, přitom jich postupně ubývá, anebo nacházejí pro svůj vývoj příznivé podmínky a pomnožují se. Pro většinu mikroorganismů je pivo nevhodným prostředím, neboť převážnou část živných látek spotřebovaly kvasinky. Kromě toho zde inhibičně působí alkohol a hořké chmelové látky, nízké pH a anaerobní podmínky. Za těchto podmínek se může v pivě pomnožovat jen omezený počet mikrobiálních druhů. Sem patří zástupci nejen některých bakterií, nýbrž i kvasinek. V pivě se pomnožují a v závislosti na jejich počátečním množství, virulenci a určitých vnějších podmínkách dříve či později vytvoří sediment a zákal piva. Biologické zákaly piva jsou v praxi zpravidla významnější než zákaly chemicko-fyzikální, protože se objeví za relativně kratší dobu a narušují nejen vzhled piva, nýbrž je mohou zcela znehodnotit i chuťově. Tato infekce se v pivě šíří tím rychleji, čím má příznivější podmínky. Je to především nevhodné složení mladiny, pH, poměrně teple vedené dokvašování a konečně použití fyziologicky slabých, degenerovaných, popř. již autolyzujících kvasnic.

Z pivovarského hlediska se považují za bezprostředně škodlivé dva druhy mléčných bakterií. Jsou to laktobacily a pediokoky, které se dříve označovaly jako „pivní sarcina“. Obojí jsou grampozitivní, katalázonegativní a nesporeují. Pouze v přítomnosti velmi malého množství asimilovatelných cukrů jsou pediokoky slabě katalázopozitivní. Pediokoky se vyskytují v podobě jednotlivých koků, ale také diplokoků nebo tetrad, tj. typických tetrad, které jsou pro ně charakteristické a slouží k jejich identifikaci při biologické analýze k rozlišení od neškodných koků, které se v pivě nepomnožují. Pediokoky mají průměr 1 až 1,3  $\mu\text{m}$  jsou fakultativně anaerobní; z glukózy, fruktózy, galaktózy mannózy a maltózy tvoří kyselinu, nikoli však z laktózy a pentóz. Obzvláště jsou náročné na zdroj dusíkatých živin. Vybíjejí se velmi dobře v přítomnosti produktů metabolismu kulturních pivovarských kvasinek, protože samy nedovedou syntetizovat thiamin a riboflavin. Pro jejich rozmnožování se velmi hodí prostředí s autolyzovanými kvasnicemi. Pediokoky jsou do značné míry rezistentní vůči působení hořkých chmelových látek. Jejich teplotní optimum leží při 23 až 25  $^{\circ}\text{C}$ , avšak pomnožují se dobře i při nízkých teplotách. Rozsah jejich optimálního pH je celkem dosti široký, a to mezi 4 až 6. Pediokoky bývaly nejčastější a nejobávanější bakteriální infekcí piva, protože pivo nejen kalí, nýbrž značně poškozují také jeho chuť tvorbou kyselin a diacetylů, který pivu dodává jakési máselné aroma. Druhově se dnes zařazují jako *Pediococcus cerevisiae* Balcke. Někteří autoři rozlišují dva druhy, a to *P. damnosus*

*Claussen* a *P. perniciosus* Claussen. První z nich tvoří v pivě převážně sediment, kdežto druhé pivo kalí. Pro úplnost je třeba připomenout, že se v literatuře setkáváme i se zařazením těchto mikrobů mezi streptokoky (*Shimwell*).

Dalšími, rovněž v negativním smyslu pivovarsky významnými bakteriemi, jsou laktobacily. Jejich typickým zástupcem je *Lactobacillus pastorianus*. Někdy se také uvádí ve dvou varietách, a to *L. pastorianus* var. *berolinensis* a var. *Lindneri*. Vyskytují se zpravidla v podobě dlouhých tyčinek, méně často v kratších formách. Běžně jde o tyčinky 0,5 až 1,0  $\mu\text{m}$  široké a 7 až 35  $\mu\text{m}$  dlouhé, které bývají velmi často párovitě spojené, přitom tvoří tupý úhel. Laktobacily jsou fakultativně anaerobní, jejich optimální teplota je 29 až 33  $^{\circ}\text{C}$ , optimální pH kolem 8; přesto však se mohou vyvíjet i při relativně nízkém pH piva. Jsou značně rezistentní vůči účinkům alkoholu a hořkých chmelových látek. Ke svému růstu však vyžadují určité množství aminokyselin a vitamínů, zejména ze skupiny B a dále purinů a pyrimidinů. Tyto potřebné látky jsou jim v pivě zpravidla k dispozici v dostatečné míře.

Zajímavé jsou však práce některých západních autorů, kteří věnovali pozornost zjištění, že některé kvasničné kmeny jsou do značné míry schopné inhibovat vývoj laktobacilů a přisuzují tento jev schopnosti kvasnic produkovat určité inhibiční substance. Jiné druhy laktobacilů se od *L. pastorianus* liší pouze teplotními vztahy a některými morfologickými a biochemickými znaky jako zkvašováním cukrů. Sem patří např. termofilní mléčné tyčinky, které se mohou velmi rychle pomnožovat ve rmutech, jestliže technickou závadou nebo z jiného důvodu klesne jejich teplota pod 50  $^{\circ}\text{C}$ .

Podobně jako uvedené bakteriální druhy poškozují pivo i tzv. divoké kvasinky. Patří sem většinou druhy, které lze snadno morfologicky rozlišit od kulturních kvasinek. Typické jsou protáhlé buňky s méně zrnitou, jasnější plasmou, které patří k poměrně nejčastěji se vyskytujícímu druhu *Sacch. pastorianus*. Tyto kvasinky se vyznačují podélně oválnými až protáhlými buněčnými tvary, přitom jejich dceřinné buňky pučí na polárních koncích mateřských buněk v tupém úhlu k podélné ose. Buňky tohoto druhu se velmi pomalu a nedokonale sázejí a působí velmi nepříjemnou hořkou příchutí piva, která je činí nepoživatelným. V našich poměrech se vzácně vyskytují buňky citrónovitěho tvaru náležejícího druhu *Klöckera apiculata*. Nápadně malé buňky jsou vždy kvasinky divoké. V této souvislosti se uvádí, že zpravidla jde o *Sacch. exiguus*. Nesnadno rozpoznatelné bývají oválné buňky *Sacch. cerevisiae*, často uváděné jako *Sacch. cerevisiae* var. *elipsoideus*, jejichž výskyt v pivě je nežádoucí. Infekce divokými kvasinkami může mít svůj počátek již v mladině nebo v násadních kvasnicích.



Přesto však se buňky většinou pomnožují teprve v ležáckém sklepě, až kulturní kvasinky více méně končí svou činnost. Zejména pak při nedostatečném prokvašení a špatné filtraci se mohou v láhvi nebo sudu pomnožit a zakalit pivo.

Nutno se zmínit ještě o mikroorganismech pro pivovarskou praxi méně významných, které však mohou za určitých pro ně vhodných podmínek infikovat pivo. Jsou to octové bakterie a některé další druhy kvasinek a kvasinkovitých mikroorganismů. Pokládáme je za méně významné proto, že se v pívě normálně nasyceném kyslíčnickem uhlíčitým nemožou pomnožovat. Uplatňují se zde pouze, když mají pro svůj vývoj vhodné aerobní prostředí, tedy v pívě nadměrně ovzdušněném nebo nedostatečně uzavřeném. Patří sem octové bakterie, význačné oxidací etanolu na kyselinu octovou, popř. až na kyslíčnick uhlíčitý a  $H_2O$ . Jsou gramnegativní, rezistentní vůči účinkům hořkých chmelových látek a vyvíjejí se v širokém rozsahu pH. Uvádí se, že nejčastěji přicházejí v úvahu různé kmeny *Acetomonas capsulata* a *Acetomonas viscosa*, které během růstu zvyšují viskozitu a kyselost piva a tvoří křís.

Za podobných podmínek se v pívě uplatňují také tzv. křisovité kvasinky, které jsou zastoupeny rody *Candida* a *Hansenula* a v pivovarské praxi jsou označovány jako mykoderma. Pomnožují se tedy pouze v nedostatečně prokvašených pivech a při nadměrném přístupu kyslíku, tedy při hrubých výrobních chybách a jsou příčinou esterové příchuti a vůně piva.

Další skupinou mikroorganismů jsou tzv. mladínové bakterie, které se dříve v pivovarské mikrobiologii označovaly názvem termobakterie. Jsou to bakterie, které mohou mladinu infikovat na cestě od stoků až do spilků a způsobit zákal a nepříjemný zápach. Patří sem různé v mladině se rychle množící krátké tyčinky různého systematického zařazení. Do této skupiny se zařazují zástupci rodů *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* a dokonce i *Escherichia* a *Aerobacter*. Uvádí se především *Serratia marcescens*, která vyvolává typický celerový zápach infikované mladiny. V případě silné infekce se tento zápach může přenést i do pívá, přestože se vývoj mladinových bakterií činností kvasinek potlačuje. Celerový zápach však není jediným následkem infekce mladinovými bakteriemi. Je třeba počítat i s tím, že jakost a množství látek spotřebovaných těmito bakteriemi z mladiny má vliv i na průběh kvašení. Tak např. mladínové bakterie snižují svým metabolismem bílkovin také obsah valinu v mladině, takže jej kvasinky musí ve zvýšené míře syntetizovat a v souvislosti s tím intenzivněji tvoří acetoín a diacetyl. Tyto látky zhoršují chuť piva. Kromě toho je další negativní stránkou pomnožení mladinových bakterií v mladině i snížení obsahu růstových látek, a to se nepříznivě projevuje ve vývoji kvasinek a tudíž v kvalitě vyrobeného piva.

V této souvislosti je třeba se zmínit i o dvou druzích bakterií, které se často uvádějí v západní odborné literatuře na základě tamnějších zkušeností jako technologicky škodlivé mikroorganismy.

## SEVEROMORAVSKÉ PIVOVARY A SODOVKÁRNY, n. p. PŘEROV

### p ř i j m o u

pro pivovar v Hanušovicích mistra sklepa.

- požadované vzdělání: VPŠ potravinářské technologie a nejméně 5 let praxe.
- Platové zařazení: T 8 + stěžejní úkoly.
- Byt k dispozici.

Písemné nabídky zasílejte na podnikové ředitelství do Přerova.

Je to *Achromobacter anaerobium*, nověji označovaný jako *Zymomonas anaerobia Shimwell*, který zvyšuje kyselost piva a je gramnegativní, zatímco ostatní škodlivé koky a bakterie jsou pozitivní. Dále je to *Flavobacterium proteus*, podle *Shimwella* *Obesumbacterium proteus*. Tento mikroorganismus svým pomnožením má nejen nepříznivý vliv na jakost mladiny, nýbrž negativně působí i při kvašení. Vyskytuje se především ve svrchně kvašených pivech.

Konečně zbývá doplnit výčet z pivovarského hlediska více či méně závažných kontaminujících mikroorganismů skupinou tzv. coliformních zárodků. Tato značně heterogenní bakteriální skupina nepatří mezi typicky technologicky škodlivé mikroorganismy. Jejich přítomnost v pívě a jeho meziproduktech je však měrou nedostatečné sanitační péče ve výrobě. Příznivým faktorem pro přežívání těchto zárodků v pívě je nízký obsah hořkých chmelových látek. Proto také všechna málo chmelená piva současně s nízkým obsahem alkoholu a relativně vysokým pH poskytují živnou půdu pro vývoj coliformních bakterií. V našich normálních poměrech za dodržení podmínek u nás běžných dávek chmele by nemělo existovat nebezpečí pomnožování těchto bakterií v pivech. Na základě vlastních zkoušek jsme ve shodě se zjištěními zahraničních autorů udělali závěr, že coliformní zárodky se v našich typech piv nerozmnožují, nýbrž pouze přežívají, a to po různé dlouhou dobu v závislosti na teplotních podmínkách a pochopitelně i na rozsahu infekce.

Je tedy zřejmé, že pivo dobře chmelené, dobře prokvašené a nasycené  $CO_2$ , s pH nepřesahujícím určitou mez, není prostředím příznivým pro vývoj coliformních zárodků. Přesto však bývají v našich závodech potíže s výskytem těchto bakterií z hygienického hlediska velmi nepříjemných. Protože jsou tyto zárodky značně rozšířeny v přírodě, je také jejich původ rozmanitý, stejně jako ostatních pivovarsky škodlivých mikroorganismů. Může to být jednak provozní voda, prach buď z ječmene, nebo sladu, či zvířený prach z ulice, různé nečis-

toty zanesené na oděvech nebo na obuvi také fekálního původu. Proto také mohou infikovat v různých místech výroby od chlazení mladiny přes spilkou, ležácký sklep až po transportní nádobu.

Nebezpečím pro šíření této infekce z jednoho provozu do druhého jsou i kvasnice, které mohou kontaminovat v závodech, kam se expedovaly. V poslední době jsme se touto otázkou zabývali a navrhli účinný způsob kyselého praní kvasnic, který byl provozně vyzkoušen a začíná se postupně aplikovat v mnoha našich závodech. Příznivý účinek tohoto zásahu se však ruší tehdy, jestliže vyprané

a infekce zbavené kvasnice přijdou do provozu, kde se zanedbávají opatření proti opětové masové reinfekci nasazených kvasnic.

V současné době se zabýváme zjišťováním rozsahu vyskytu coliformních bakterií v hotových pivech a v rozhodujících fázích výrobního procesu, jejich epidemiologickým významem a tudíž z hlediska zdravotní nezávadnosti výrobku jejich maximální přípustnou hranicí. O výsledku práce podáme zprávu koncem tohoto roku.

*Došlo do redakce 8. 5. 1967.*

#### ВРЕДНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ, НАРУШАЮЩИЕ ТЕХНОЛОГИ- ЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПИВОВАРЕННОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

В статье описаны микроорганизмы, нарушающие при чрезмерном размножении технологические процессы пивоварения. Они влияют вредно на качество промежуточных продуктов процесса а также ухудшают конечный продукт т. е. пиво.

#### PROBLEMATIK DER TECHNOLOGISCH UNERWÜNSCHTEN MIKROORGANISMEN IN DER BRAUINDUSTRIE

Die Autorin befasst sich mit den Mikroorganismen, deren Vermehrung nicht nur die Qualität der Zwischenprodukte bei der Bierherstellung, sondern auch die Qualität des Endproduktes in technologisch unerwünschter Richtung beeinflusst.

#### HARMFUL MICROORGANISMS INTERFERING WITH BREWING PROCESSES

The article deals with some kinds of microorganisms which — if their multiplication exceeds certain limits — disturb normal technological processes in breweries by deteriorating the quality of semi-products and thus also the quality of the final product, i. e. beer.