

Problematika koliformních mikroorganismů

OLGA BENDOŤ a VERA KURZOVÁ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

683.41 : 576.8
576.851.48

Pomnožovací schopnost koliformních bakterií v mladině a v pivě

Není již třeba zdůrazňovat důležitost řešení otázky koliformních bakterií v souvislosti s jejich výskytem v pivě a výrobních meziproduktech. O tomto problému se již mnoho hovořilo a psalo. Naše zkušenosti a názory v tomto směru byly shrnuty v přednášce na II. diskusním dnu pracovníků pivovarsko-sladařského výzkumu a praxe koncem října 1967 a uveřejněny v č. 11 tohoto časopisu v témže roce. V tomto sdělení chceme čtenáře in-

formovat o výsledcích šetření pomnožovací schopnosti koliformních bakterií v mladině, zakvašené mladině a v pivě.

Vývoj koliformních zárodků v mladině a v pivě

Při zkouškách se pracovalo s čistými kmeny zástupců koliformních bakterií, zaočkovaných vždy za stejných podmínek do sterilní mladiny a do pasterovaného piva různé stupňovitosti. Výsledky jsou udány v % přežívajících zárodků z celkového počtu zaočkovaných bakterií po 24 a 72 h inkubace při různých teplotách (tabulka 1).

Tabulka 1

Vývoj koliformních bakterií v mladině a v pivě

Kmen	Čas h	°C	Mladina				Pivo		
			% přežívajících zárodků				% přežívajících zárodků		
			12°	10°	7°	zřed. 7°	12°	10°	7°
E. coli, fekální	24	4	107	123	107	107	115	100	120
		8	107	115	83	107	100	90	80
		25	nespočítatelné množství				100	90	160
		37	nespočítatelné množství				0	0	0
	72	4	78	84	61	46	100	75	95
		8	107	130	92	107	95	80	55
		25	nespočítatelné množství				20	12	4
		37	nespočítatelné množství				0	0	0
E. coli, izolát z piva	24	4	92	92	75	90	91	54	63
		8	130	107	105	87	118	54	77
		25	nespočítatelné množství				9	54	18
		37	nespočítatelné množství				0	0	0
	72	4	85	82	45	95	100	68	59
		8	240	115	115	180	100	36	63
		25	nespočítatelné množství				0	0	0
		37	nespočítatelné množství				0	0	0
Enterobacter, izolát z piva	24	4	79	91	91	91	72	53	63
		8	108	83	91	100	43	45	47
		25	nespočítatelné množství				14	4	29
		37	nespočítatelné množství				0	0	0
	72	4	88	88	70	108	54	45	50
		8	100	75	75	91	45	35	47
		25	nespočítatelné množství				1	0	5
		37	nespočítatelné množství				0	0	0
Citrobacter, izolát z piva	24	4	44	78	72	67	23	23	23
		8	61	33	100	61	23	11	23
		25	350	265	nespoč. množ.		21	5	0
		37	nespočít. množství				0	0	0
	72	4	11	22	33	55	23	7	8
		8	28	22	28	17	11	11	8
		25	nespočítatelné množství				0	0	0
		37	nespočítatelné množství				0	0	0

Tyto výsledky ukazují, že zatímco v mladině již po 24 h kultivace při 25 °C i 37 °C se koliformní bakterie pomnožují, klesl v pivech tento počet za stejných podmínek při 37 °C až na nulu. Již při teplotě 25 °C se po 72 h pohybuje počet přežívajících zárodků v pivě od 0 do 20 %, při nižších teplotách (4 °C a 8 °C) bylo zjištěno, že může přežít za tuto dobu dokonce i 100 % přítomných zárodků. Souhrnně z výsledků vyplývá, že počet koliformních bakterií v mladině se zvyšující se teplotou stoupal, zatímco v pivě tomu bylo naopak, neboť se zde při vyšší teplotě, zejména při 37 °C uplatňoval vliv různých faktorů (CO₂, alkohol a nízké pH piva). Z uvedeného je současně vidět, že nejvyšší procento přežívajících zárodků dává kmen *E. coli* fekálního původu a nejnižší procento bylo zaznamenáno u kmene *Citrobacter*.

Výsledky této zkoušky jsou v souladu se zjištěním, že mladina ponechaná na stocích delší dobu po ochlazení pod 50 °C je vhodným živným prostředím pro mnohé mikroorganismy. Čím déle se zde ponechává, snižuje se její teplota k optimu pro růst koliformních bakterií, tím více se zvyšuje nebezpečí infekce.

Koliformní bakterie v zakvašené mladině

Další otázkou bylo, zda se může uplatnit sekundární infekce při kvašení. Za tím účelem se zakvasila sterilní mladina čistou kulturou pivovarských kvasinek a po 40 hodinách (při teplotě 4 °C a 8 °C) se zinfikovala jednotlivými kmeny koliformních bakterií. Po 24 h, 3 a 7 dnech od kontaminace se zjišťoval počet přežívajících zárodků (tabulka 2).

Z tabulky 2 je vidět, že počet zárodků klesal, a to po 7 dnech kvašení při 4 °C asi na 70 až 20 % původního počtu, při 8 °C na 40 % až 0 %. Opět vyšší procento přežívání charakterizuje kmeny *E. coli* a nižší procento kmeny *Citrobacter*. Při porovnání tabulek 1 a 2 je vidět, že zatímco procento přežívajících zárodků v čisté mladině je v některých případech (zpravidla po 72 h) při 4 °C nižší než při 8 °C, v zakvašené mladině je tomu naopak. V tomto druhém případě se uplatňuje vliv kvasinek. Při teplotě 8 °C, kdy kvasná činnost je intenzivnější, se bakteriální infekce může méně uplatnit než při teplotě 4 °C, při níž jsou metabolické procesy kvasničných buněk již pomalejší.

Koliformní bakterie v mladině zakvašené slabě a silně zinfikovanými kvasnicemi

V tabulce 3 jsou uvedeny výsledky zkoušky, při které se sledovalo přežívání koliformních bakterií v mladině zakvašené infikovanými kvasnicemi. Na rozdíl od předchozího pokusu (sub 2), kdy byla druhotně infikovaná mladina zakvašena čistými kvasnicemi, použilo se nyní kvasnic kontaminovaných slabší a silnější směsí koliformních bakterií. V tomto případě počet inokulovaných mikroorganismů klesal podstatně pomaleji než v předchozím pokusu při řádově stejném počtu zaočkovacích bakterií. V prvních dnech dokonce tento počet stoupal, teprve od 3. dne po zakvašení bylo možno pozorovat úbytek. Tato klesající tendence u obou posledních zkoušek nesmí však svádět k pouhému konstatování, že se infekce nemůže v průběhu kvašení

citelně uplatnit, že ji kvasnice potlačí. I po 10 dnech kvašení zůstalo přítomno 50 % zaočkovacích mikroorganismů, které mohou kvasinkám odčerpávat živné látky a růstové faktory, a tím popř. mít vliv i na průběh kvašení a jakost hotového piva. Ty-

Tabulka 2

Vývoj koliformních bakterií v zakvašené mladině

Kmen	Čas — dny	% přežívajících zárodků	
		4°	8°
<i>E. coli</i> , fekální	1	78	66
	2	73	62
	7	54	36
<i>E. coli</i> , izolát z piva	1	89	89
	2	63	52
	7	42	10
<i>E. coli</i> , sbírkový kmen	1	113	106
	2	106	93
	7	73	40
<i>Enterobacter</i> , izolát z piva	1	93	87
	2	81	62
	7	22	10
<i>Enterobacter</i> , sbírkový kmen	1	80	60
	2	60	48
	7	23	11
<i>Citrobacter</i> , izolát z piva	1	56	58
	2	54	33
	7	21	0
<i>Citrobacter</i> , sbírkový kmen	1	65	65
	2	65	34
	7	50	2

to výsledky opět potvrzují důležitost čistého vedení a uchovávání kvasnic a jejich pravidelnou mikroskopickou kontrolu před každým nasazením do provozu.

Přežívání koliformních bakterií v lahvovém pivě

Neméně významné jsou výsledky šetření životaschopnosti koliformních bakterií přímo v lahvovém pivě. Zkouška byla provedena tak, že se v pivě

Tabulka 3

Dny	% přežívajících zárodků	
	slabá infekce kvasnic	silná infekce kvasnic
1	125	102
3	115	92
7	78	60
10	58	51

odebraném ihned po stočení stanovil počet koliformních zárodků a tento počet se pak sledoval po 3, 7 a 10 dnech úschovy lahví s pivem při teplotách 8 °C a 20 °C [z každého vzorku se otevíraly pro každé stanovení vždy 4 láhve].

Při uchování piva při 20 °C klesl počet koliformních zárodků již po 7 dnech na nulu, a to v 7°, 10° i 12° pivě. Při teplotě 8 °C klesl tento počet po 10 dnech v 7° pivě na 5 %, v 10° pivě na 3 % a v 12° pivě na nulu. Vyšší teplota, tj. 20 ° se projevila opět jako nepříznivý faktor pro přežívání těchto bakterií v pivě. Při porovnání výsledků tabulek 4 a 2 je vidět, že schopnost koliformních bak-

dit tomu, že v těchto lahvičkách není zachován původní tlak CO₂ v takové míře jako v lahvovém pivě, kde se uplatňuje daleko více inhibiční vliv tlaku CO₂ a nedostatku kyslíku. Ze stejného důvodu lze považovat za hlavní inhibitor v lahvovém pivě nedostatek kyslíku a vliv tlaku CO₂, zatímco v tomto směru nelze přisuzovat podstatný význam pH, hořkým chmelovým látkám, ani jejich koncentraci v běžném rozmezí. Tyto faktory byly zhruba stejné jak v lahvovém, tak v pasterovaném pivě. V lahvovém pivě má nemalý vliv také kompletnost těchto faktorů.

Tyto výsledky potvrzují dřívější zkušenosti, že pivo není prostředím příznivým pro vývoj uvedených mikroorganismů, že tudíž v závislosti nejen na velikosti kontaminující dávky, nýbrž i nepřímo úměrně na inkubační teplotě počet koliformních bakterií v pivě klesá. V nezakvašené mladině je tomu naopak, což vyžaduje věnovat biologické čistotě mladiny mimořádnou pozornost.

Tabulka 4

Přežívání koliformních bakterií v lahvovém pivě

Pivo	Dní	% přežívajících zárodků	
		8°	20°
7° světlé	3	23	7
	7	1	0
	10	5	0
10° světlé	3	16	1
	7	3	0
	10	1	0
12° světlé	3	2	1
	7	1	0
	10	0	0

terií přežít přímo v lahvovém pivě je podstatně menší než v pivě pasterovaném v lahvičkách s obloučkovým uzávěrem. Tento rozdíl lze přisou-

Literatura

- [1] Bendová, O.: O životaschopnosti *Escherichia coli* v pivě. Sborník „O úkolech potravní mikrobiologie“, 1957: 110.
- [2] Bunker, H. J.: The Survival of Pathogenic Bacteria in Beer. E. B. C., Baden-Baden, 1955, 330.
- [3] Koch, R.: Sind Coli-Bakterien im Bier lebensfähig? = „Wo. f. Br.“, 49, 1932: 110; „Wo. f. Br.“ 49, 1932: 116.
- [4] Muzikář, V. - Lion, B.: Příčiny mikrobiálního znečišťování piva. = „Čs. hygiena“, 10, 1962: 622.
- [5] Schwotzer, H.: Über das Vorkommen von den *Escherichia coli* im Bier. = „Zeitschr. f. d. gesamte Hygiene und ihre Grenzgebiete“, 8, 1962: 1.
- [6] Thorwest, A.: Über Coli und coliforme Keime. = „Brauwelt“, 105, 1965: 845.
- [7] Uhl, A.: Beiträge zur Kenntnis der coliformen Bakterien nieder- und mittelpotenziger Biere und zur Klärung der Formenverwandtschaft der Coli-Aerogenes Gruppe. = „Arch. f. Mikrob.“, 17, 1952: 97.
- [8] Weinfurter, F. - Uhl, A.: Zur Frage des Coli-Nachweises in Brauereien. = „Brauwiss.“, 5, 1952: 145.
- [9] Weinfurter, F. - Eschenbacher, F.: Über Termobakterien und ihre Einflüsse auf die Wachstumsverhältnisse in der Würze. = „Brauwelt“, 102, 1962: 1485.

Došlo do redakce 16. 1. 1968

ПРОБЛЕМЫ РАЗМНОЖЕНИЯ
МИКРООРГАНИЗМОВ ГРУППЫ
КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ

В статье приводятся результаты изучения способности микроорганизмов группы кишечной палочки размножаться в сладком сусле, броющем сусле и готовом пиве при разных температурах инкубации. Было установлено, что в пиве зародыши этих бактерий не развиваются и их число уменьшается, при чем скорость уменьшения обратно пропорциональна температуре. Противные закономерности характеризуют ход процессов в сусле.

DIE PROBLEMATIK DER COLIFORMEN
MIKROORGANISMEN I

Es wird die Entwicklungsfähigkeit der coliformen Mikroorganismen in der Würze, in der gärenden Würze und im Bier bei verschiedenen Inkubationstemperaturen verglichen. Es wurde festgestellt, dass sich die Bakterien der erwähnten Gruppe im Bier nicht vermehren. Ihre Zahl sinkt in indirekter Abhängigkeit zur Temperatur. Bei der Würze ist das Verhältnis umgekehrt.

SOME PROBLEMS OF THE COLIFORM BACTERIA — I

The propagating ability of the coliform bacteria in sweet wort, fermenting wort and beer has been compared at various incubating temperatures. In beer the germs fail to propagate and their number drops gradually the rate being indirectly proportional to the temperature. Contrary conditions are in sweet wort.