

Studium příčin zmnožování kvasinek v nealkoholických nápojích

Vliv teploty, kyslíku a organických látek

RNDr. LIBUŠE ŠVORCOVÁ, Výzkumný ústav balneologický, Mariánské Lázně

Do redakce došlo 7. 7. 1971

Ve slazených minerálních vodách, jakož i v mnohých nealkoholických nápojích se během skladování při pokojové teplotě rozmnožují přítomné mikroorganismy, mezi jinými i kvasinky. Zplodinami své látkové výměny, které mohou být podle některých autorů i toxické (Muzikář, Emberger), zhoršují značně organoleptické vlastnosti nápoje. Poněvadž norma pro slazené minerální vody povoluje při měsíční garanci skladování do teploty 18 °C, byli jsme pověřeni prověřit, do jaké míry může teplota skladování ovlivnit rozmnožování mikroorganismů. Současně s teplotou sledovali jsme i vliv kyslíku a organických látek.

Experimenty a diskuse

Skladovací pokusy jsme uspořádali tak, že jsme připravili do sterilních transfuzních lahví s gumovou zátkou a šroubovacím uzávěrem sterilní 6 až 8% roztok sirupu, jehož pH jsme 20% louhem sodným upravili na 4. Polovina lahví byla naplněna až po hrdlo, v druhé polovině jsme nechali na 200 ml roztoku asi 50 až 100 ml vzduchu. Do takto připraveného sterilního média jsme naočkovali 72 hodin

starou kulturu kvasinek rodu *Saccharomyces*, které jsme vyzolovali ze slazené minerální vody z Horní Moštěnice. V jedné třetině lahví jsme sledovali rozmnožování kvasinek pouze v cukerném roztoku, do druhé třetiny jsme přidali 6 až 600 ppm bujónu a do zbytku 12 až 120 ppm lepidla používaného k lepení etiket. Lepidlo se totiž při mytí lahví uvolňuje do mycích lázní, a při špatném výstřiku se jím může znečišťovat láhev. Všechny takto připravené vzorky jsme inkubovali při teplotě 10, 17 a 25 °C. V určitých časových odstupech jsme v pokusu č. I počítali kvasinky mikroskopicky v Cyrusově komůrce, v pokusu č. II jsme vyočkovávali 1 ml suspenze nebo potřebné ředění na sladidinový agar a inkubovali při teplotě 25 °C po dobu 72 hodin. Výsledky vypočítané jako průměr ze 3 až 9 stanovení jsou uvedeny v tab. 1 a 2 a obr. 1 až 11.

Z uvedených hodnot je patrné, že ve všech případech, i za nízké teploty 10 °C, se kvasinky rozmnožovaly podobně jako při statické kultivaci. Toto zjištění souhlasí s pozorováním *Pěgřimkové* a *Schurra*. Dosažené maximum bylo za různých teplot zhruba stejné, při aerobní kultivaci však bylo zjištěno maximální množství kvasinek až o 2 řády vyšší, a

Tabulka 1. Vliv teploty a vzduchového polštáře na zmnožování kvasinek

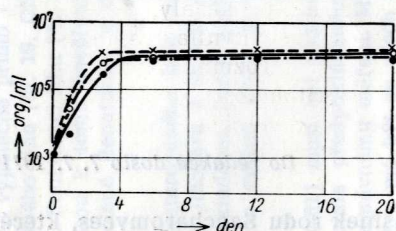
Pokus	Den inkub.	10 °C		17 °C		25 °C	
		bez vzduchového polštáře	se vzduchovým polštářem	bez vzduchového polštáře	se vzduchovým polštářem	bez vzduchového polštáře	se vzduchovým polštářem
I	0	1 500	2 400	2 500	2 700	2 900	2 700
	1	6 200	5 500	32 600	16 000	5 600	1 050 000
	3	445 600	230 000	1 600 000	4 700 000	930 000	6 200 000
	6	1 000 000	3 400 000	1 100 000	7 100 000	1 000 000	9 100 000
	12	1 570 000	10 200 000	1 520 000	9 400 000	1 300 000	6 400 000
	20	1 260 000	11 100 000	1 200 000	10 000 000	1 200 000	6 200 000
II	0	3 300	3 300	3 500	3 500	3 000	3 600
	1	6 000	4 100	20 000	12 000	540 000	20 000
	3	75 000	111 000	400 000	1 700 000	540 000	2 100 000
	6	70 000	2 600 000	440 000	3 800 000	780 000	1 900 000
	12	200 000	6 000 000	930 000	7 300 000	400 000	56 000 000
	20	160 000	6 500 000	160 000	1 500 000	160 000	2 700 000
pH		3,63	3,47	3,35	3,28	3,37	3,01

to v pokusu č. II $5,8 \cdot 10^7$, v pokusu č. I $1 \cdot 10^7$ buněk. Při anaerobní kultivaci bylo zjištěno maximálně $1,1$ až $1,6 \cdot 10^6$ buněk. Křivky dosáhly maxima mezi 6. až 12. dnem inkubace, přičemž při aerobní kultivaci se dosáhlo již 3. den počtu, který se zjis-

til v maximu anaerobní kultivace. Vliv teploty se projevil pouze ve zkrácení lag-fáze a rychlejším startem do fáze exponenciální v průběhu výskytových křivek.

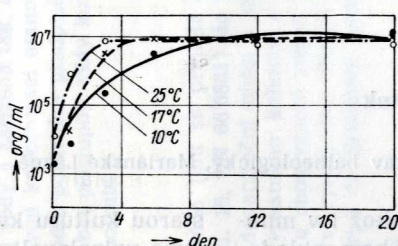
V dalších pokusech byl sledován vliv organických

Anaerobní kultivace



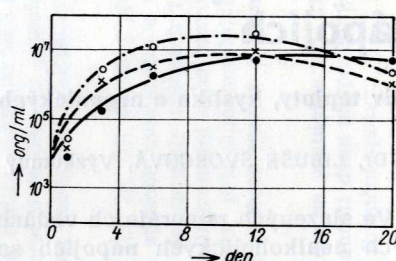
Obr. 1

Aerobní kultivace



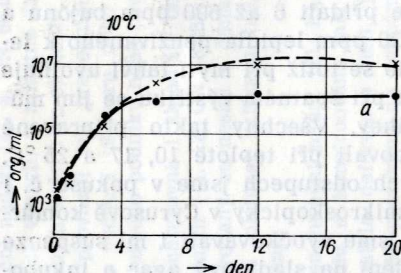
Obr. 2

Aerobní kultivace II

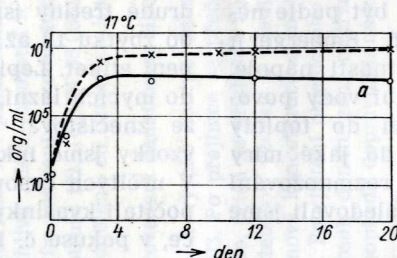


Obr. 3

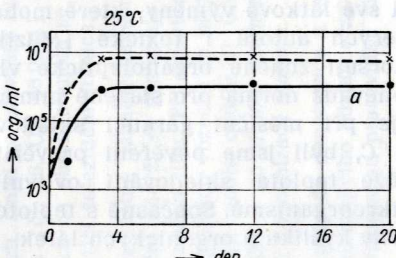
Obr. 1.—3. Vliv teploty



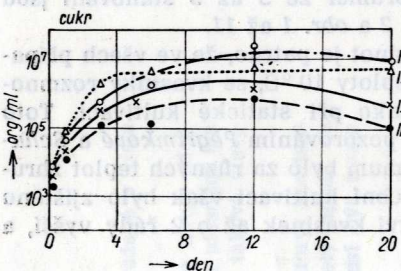
Obr. 4



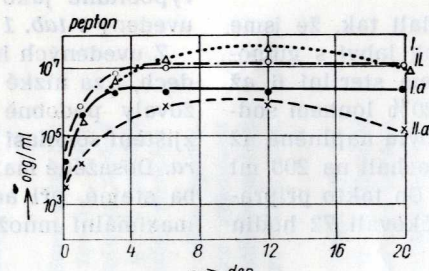
Obr. 5



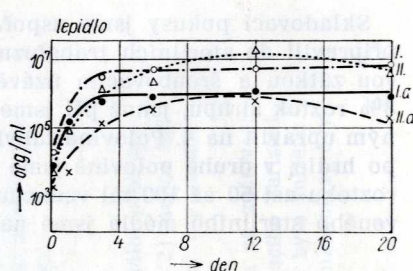
Obr. 6



Obr. 7



Obr. 8



Obr. 9

Obr. 4.—9. Vliv kyslíku (a — bez přístupu vzduchu)

Tabulka 2. Vliv organických látek a vzduchového polštáře na množování kvasinek

Pokus	Den inkub.	Cukr		Pepton		Lepidlo	
		bez vzduchového polštáře	se vzduchovým polštářem	bez vzduchového polštáře	se vzduchovým polštářem	bez vzduchového polštáře	se vzduchovým polštářem
I	0	2 900	2 900	2 500	3 200	2 000	2 800
	1	21 100	34 000	400 000	900 000	140 000	300 000
	3	420 000	2 600 000	1 400 000	3 500 000	530 000	3 200 000
	6	490 000	3 000 000	1 450 000	9 500 000	720 000	5 600 000
	12	1 400 000	5 600 000	1 700 000	11 000 000	1 330 000	6 700 000
	20	560 000	6 200 000	1 700 000	12 000 000	900 000	7 600 000
II	0	3 000	3 400	3 500	3 500	3 000	3 600
	1	16 000	10 000	16 000	8 700	5 000	7 500
	3	190 000	1 400 000	240 000	1 400 000	145 000	1 300 000
	6	150 000	1 500 000	830 000	10 000 000	400 000	1 800 000
	12	1 900 000	25 000 000	800 000	46 000 000	950 000	23 000 000
	20	100 000	740 000	110 000	8 700 000	200 000	540 000

látek bílkovinné povahy na rozmnožování kvasinek v aerobním a anaerobním prostředí. Opět lze konstatovat, že z nedostatku kyslíku se vliv těchto látek takřka neprojevil. Maxima se dosáhlo opět mezi 6. až 12. dnem inkubace množstvím $1,3$ až $1,7 \cdot 10^6$ v pokusu č. I a 8 až $11 \cdot 10^5$ v pokusu č. II. Opět bylo pozorováno zkrácení lag-fáze a rychlejší start do fáze exponenciální, při vyšších teplotách. Při inkubaci za přístupu kyslíku byl maximální počet buněk alespoň o řád vyšší a byl v pokusu č. 3 za přítomnosti látek peptonového charakteru až

na mírná stimulace, takže bylo dosaženo v pokusu č. I $7,6 \cdot 10^6$, pokusu č. II $2,3 \cdot 10^7$ buněk, tedy vyššího počtu, než pouze v cukerném roztoku, avšak menšího počtu než za přítomnosti peptonu.

Závěr

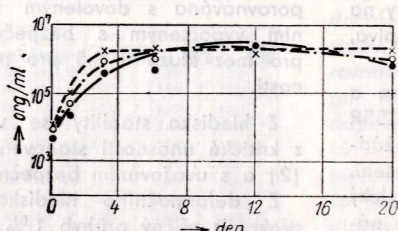
Provedené pokusy jasně prokázaly, že teplota 10°C a vyšší (do 25°C) neovlivnila, za ostatních stejných podmínek, rychlost rozmnožování a maximální počet buněk. Za přítomnosti kyslíku a organických látek zvláště bílkovinného charakteru se při vyšších teplotách zkracuje lag-fáze a start do exponenciální fáze je rychlejší. Maxima bývá dosaženo dříve, maximální počet buněk bývá o řád vyšší. Ve slazených minerálních vodách bývá rozmnožování kvasinek ovlivněno ještě jinými, dosud neobjasněnými faktory.

Během inkubace nebyla pozorována změna refrakce, avšak pH roztoku se v některých případech snížilo až na 2,9. Za aerobních podmínek při vyšších teplotách se pH snižovalo více. Menší pokles byl pozorován za přítomnosti látek peptonové povahy, které působily do jisté míry jako stabilizátory, což se projevilo hlavně při vyšších koncentracích organických látek, tj. při 600 ppm bujónu na 1 litr.

Literatura

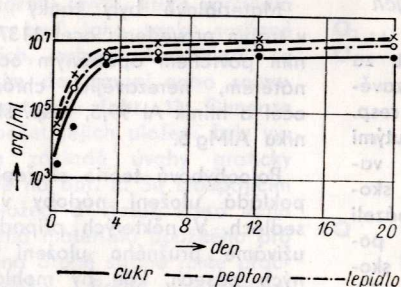
- [1] ARPAI, J.: O vplyve psychrofilných mikroorganizmov na akosť potravín. Prům. potravin **15**, 1964, 574-76
- [2] ARPAI, J.: Ergebnisse von Untersuchungen über den Einfluss tiefer Temperaturen auf Hefen und Schimmelpilzen aus Fruchtsäften. Kälte, **18**, 1965, 173-177.
- [3] ARPAI, J.: Růst mikroorganismů v potravinách za chladu. Čs. hygiena **9**, s. 129-139, Ref. Z. biol. 6B, 1965, 347.
- [4] DAUBNER, I.: Mikrobiologie vody, SAV, Bratislava, 1967, s. 462.
- [5] EMBERGER, O.: Studium hygienického významu aerobních sporulujících mikrobů. Čs. hygiena, VII/3, 1963 s. 137-146.
- [6] EMBERGER, O.: Ochrana zdraví před účinkem, mikrobů v potravinách. Prům. potr. **20**, 1969, 9-13.
- [7] MUŽIKÁŘ, V.: osobní sdělení.
- [8] PEGRIMKOVÁ, J.: Vliv elektrokatadynace na kvasinky v potravinách, dosud nepublikováno.
- [9] SCHUR, F.: Die Bedeutung kälteliebender Bakterien für die Lebensmittelindustrie. Schweiz. Brau. Rdsch. **80**, **12**, 1969, s. 305-388.
- [10] ŠVORCOVÁ, L.: Změna kvality minerálních vod během skladování. Závěrečná zpráva VÚB M. Lázně, 1970.

Anaerobní prostředí



Obr. 10. Vliv organických látek

Aerobní prostředí



Obr. 11. Vliv organických látek

$1,2 \cdot 10^7$ při zkoušce mikroskopické a $4,6 \cdot 10^7$ při analýze kultivační. Přítomnost lepidla v pokusu č. I i II spíše brzdila v anaerobním prostředí množování kvasinek, při aerobní kultivaci byla pozorová-