

Pivovarství a sladařství

Vztah mikrobiálních kontaminantů k trvanlivosti piva

003.41:570.8
003.41:543.92

Prof. Dr. OLGA BENDOVÁ, VĚRA KURZOVÁ prom. biol., Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Ve srovnání se sladinou je pivo pro pomnožování mikroorganismů méně vhodným médiem především z hlediska obsahu hořkých chmelových látek. Přesto se v něm mohou v závislosti na výrobních podmínkách některé mikroorganismy pomnožovat a nepříznivě ovlivňovat jeho biologickou stálost. Jak známo, uplatňují se v tomto směru jak kvasinky, tak bakterie.

Podle podmínek filtračního postupu mohou zde negativně působit kvasinky kulturní nezávisle na kontaminaci cizími kvasinkami. Z cizích kvasinek kazí pivo především různé příslušníci rodu *Saccharomyces*. Dále v něm mohou škodlivě působit některé kvasinky rodu *Pichia*, *Hansenula*, *Debaryomyces*, *Candida* a jiné kvasinky.

Z bakteriálních kontaminantů jsou pro trvanlivost piva nežádoucí některé mléčné kvašení. Jde o zástupce rodů *Lactobacillus* a *Pedococcus*. Jejich taxonomické zařazení podléhalo v průběhu řady let od doby Pasteurovy a Hansenovy četným změnám. Vývoj různých názorů na tuto otázku je blíže uveden v odborné literatuře [1, 2, 3, 4, 5].

V současné době se pivu škodlivé pediokoky zařazují k druhu *Pedococcus cerevisiae*, avšak připouští se mož-

Tabulka 2. Vliv koncentrace izolovaných cizích kvasinek na trvanlivost 10% piva

Izolát č.	Trvanlivost (dny)			
	koncentrace kvasinek			
	1/ml	10/ml	100/ml	1 000/ml
1	4,8	3,2	2	2
2	5,6	4,8	4	3,6
3	4	4	3	2
4	6	4,8	4,8	4
5	5,2	4,2	3,2	3
6	5,6	4,6	3,8	3
7	5,2	4,6	4	3,6
8	6,4	5	3,2	2,6
9	5	4	3	3
10	5,8	5,2	4,8	3,6

Tabulka 3. Charakteristika izolovaných kvasinek

Vlastnost	Kmen (číslo)
Povrchový růst (tekuté médium)	+ 1 2 4 7 8 - 3 5 6 9 10
Asimilace KNO ₃	+ 1 4 - 2 3 5 6 7 8 9 10
Fermentace	+ 6 9 10 - 1 2 3 4 5 7 8
Rafinosa 1/3	+ 6 9 10
Pseudomycelium	+ 1 2 3 5 8 - 4 6 7 9 10
Sporulace	+ 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Tabulka 1. Vliv koncentrace různých druhů kvasinek ze sbírky VÚPS na trvanlivost 10% piva

Kmen	Trvanlivost (dny)			
	koncentrace kvasinek			
	1/ml	10/ml	100/ml	1 000/ml
<i>Sacch. carlsbergensis</i> Holešovice B	7	5,4	4,2	3
<i>Sacch. carlsbergensis</i> Plzeň H	6,6	5,2	4,4	3,4
<i>Sacch. carlsbergensis</i> Smíchov B	6	5	4	3
<i>Sacch. pastorianus</i>	5	4,2	3,6	2,6
<i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>ellipsoideus</i>	4	3,4	2,2	2
<i>Sacch. diastaticus</i>	6	5	4	3
<i>Sacch. cerevisiae</i> Hansen	7,8	6,2	5	4
<i>Sacch. exiguus</i>	9,8	8	6,2	4,6
<i>Kloeckera apiculata</i>	8,8	7	6	4,6
<i>Debaryomyces globosus</i>	10,4	9,6	8,2	6,4
<i>Pichia membranaefaciens</i>	9,2	7	5,6	4
<i>Brettanomyces bruxellensis</i>	9,4	7,6	4,8	3,6
<i>Candida mycoderma</i>	do 14 dnů bez sedl. i zákalu	do 14 dnů bez sedl. i zákalu	9,4	6,8
<i>Candida utilis</i>	do 14 dnů bez sedl. i zákalu	14	9,2	7,6
<i>Hansenula anomala</i>	do 14 dnů bez sedl. i zákalu	9	8,6	7
<i>Rhodotorula</i>	do 14 dnů bez sedliny i zákalu			

nost výskytu v kvasnicích i příslušníků jiného druhu [4].

Nejčastějšími tyčinkovými kontaminanty piva jsou laktobacily, které podle výsledků výzkumu z minulých let přísluší k heterofermentativnímu druhu *Lactobacillus brevis* a dále i k některým druhům homofermentativním [3]. Existence samostatného a v minulosti velmi známého druhu *Lactobacillus pastorianus* se odmítá.

Jako primární zdroj mléčných bakterií se zpravidla udává prach z ječmene a sladu, který se pohybem vzduchu dostává na různá místa v pivovarské výrobě. Odtud zřejmě pochází bakteriální kontaminace piva, která je znehodnocuje pomnožením s produkty metabolické činnosti [5, 6, 7, 8]. S tímto tvrzením je ve shodě experimentálně zjištěná životaschopnost laktobacilů po delší době úchovy v suchém stavu [9]. Dalším velmi závažným zdrojem této kontaminace bývají velmi často pivovarské kvasnice, jimiž se mléčné bakterie šíří do různých pivovarů.

Metody průkazu uvedených mikrobiálních kontaminantů pivovarské výroby byly v průběhu let postupně zdo-

Tabulka 4. Vztah počtu laktobacilů k trvanlivosti 10% piva

Izolát č.	Trvanlivost (dny)			
	koncentrace kvasinek			
	1/ml	10/ml	100/ml	1 000/ml
1	8,2	7,2	4,6	4,4
2	8,7	8,3	5,7	3,7
3	10,7	8,3	7,7	6,3
4	7,0	5,0	4,0	3,0
5	6,3	6,0	5,0	3,7
6	6,0	5,0	4,0	3,0
7	10,0	8,3	7,0	5,3
8	7,7	6,0	5,3	4,0
9	9,3	6,0	5,0	4,3
10	10,3	6,3	6,0	4,0

Tabulka 5. Vztah počtu laktobacilů k trvanlivosti 12% piva

Izolát č.	Trvanlivost (dny)			
	počet zárodků			
	1/ml	10/ml	100/ml	1 000/ml
1	10,6	9,6	8,2	6,8
2	10,3	9,0	7,7	6,0
3	10,7	9,0	8,3	8,0
4	8,0	6,0	5,0	4,0
5	8,0	6,7	6,0	5,3
6	8,0	7,0	6,0	5,0
7	11,7	10,0	8,0	6,0
8	11,0	8,0	7,0	6,0
9	12,0	7,3	7,3	6,0
10	11,3	10,0	8,0	6,3

Tabulka 6. Vztah počtu pediokoků k trvanlivosti 10% piva

Izolát č.	Trvanlivost (dny)			
	počet zárodků			
	1/ml	10/ml	100/ml	1 000/ml
1	10,0	7,7	5,3	3,0
2	15,7	11,0	9,7	3,3
3	13,7	11,7	7,0	4,3
4	10,0	7,0	4,7	3,0
5	8,7	7,3	5,0	4,7
6	11,3	9,3	6,0	4,0
7	10,0	7,7	5,0	3,3
8	10,7	7,7	6,0	4,7
9	10,3	6,7	5,3	3,7
10	15,0	11,3	7,0	5,7

Tabulka 7. Vztah počtu pediokoků k trvanlivosti 12% piva

Izolát č.	Trvanlivost (dny)			
	počet zárodků			
	1/ml	10/ml	100/ml	1 000/ml
1	12,7	9,0	6,0	4,0
2	16,3	12,3	9,0	4,3
3	14,0	12,3	9,3	8,0
4	12,3	8,7	6,3	4,0
5	15,0	12,0	9,3	6,7
6	14,3	10,7	6,7	4,7
7	12,7	9,0	6,0	4,0
8	12,0	9,0	8,0	6,0
9	13,0	8,3	7,0	5,3
10	16,3	12,7	9,0	7,7

konaleny tak, že v současné době lze tyto mikroorganismy ve vyšetřovaném materiálu zjišťovat spolehlivě. Této problematice byla věnována řada prací, které zde neuvádíme, protože tematicky přímo nesouvisí s obsahem tohoto sdělení.

Při pivovarské mezioperační biologické kontrole, např. při hodnocení účinnosti filtrace apod. je třeba k vyhodnocení výsledků znát limitní počty sledovaných kontaminantů. Proto byla provedena série zkoušek k zjištění kvantitativních vztahů škodlivých zárodků a stálosti piva.

Řešení těchto vztahů však nelze považovat za vyčerpávající a zjištěné vztahy za absolutně platné, protože jsou komplikovány skutečností, že totiž kontaminující zárodky zpravidla představují směs mikroorganismů, které mají v rámci rodu různou citlivost k pivu a tedy i různou schopnost se v něm pomnožovat. Přesto však lze výsledky šetření považovat za vhodné vodítko pro pivovarskou biologickou kontrolu.

Při práci se postupovalo tak, že mikroorganismy izolované z piva, i kmeny uchovávané ve sbírce VÚPS byly vždy zaočkovány do 100 ml pasterovaného piva. Inokulum se dávkovalo tak, aby vzorky obsahovaly po 1, 10, 100 a 1000 zárodků v 1 ml piva. Výsledky uvedené v tabulkách představují vždy průměrné hodnoty z 5 vzorků po inkubaci při 20 °C do doby zřetelného pomnožení.

Tabulka 1 uvádí vztahy mezi počtem kvasinek po inokulaci a dobu potřebnou k zřetelnému pomnožení v pivě. Použily se běžné provozní kmeny a kmeny ze sbírky VÚPS příslušející k různým druhům s rozdílnou metabolickou charakteristikou.

Tabulka 2 obsahuje výsledky šetření tohoto vztahu u

kvasinek izolovaných z piva, jejichž odlišnost od kulturních pivovarských kvasinek byla ověřena na základě určení některých jejich morfologických, fyziologických a biochemických vlastností (tabulka 3).

Z obou tabulek je zřejmé, že cizí kvasinky, a to především ty, které byly izolovány z piva, velmi rychle je kazily, a to i při poměrně nízké počáteční koncentraci podobně jako kvasinky kulturní v důsledku předchozí adaptace k tomuto prostředí. Například obsahoval-li vzorek z počátku pouze 1 buňku v 1 ml, nastalo průměrně již za 5 dní zřetelné pomnožení kvasinek v pivě. Při vyšších počátečních koncentracích se trvanlivost vzorků úměrně snižovala. Některé sbírkové kmeny kvasinek se však chovaly odlišně v závislosti na požadavcích svého metabolismu a citlivosti k prostředí. V této souvislosti se v nízkém počtu (1 buňka v 1 ml, popř. 10 buněk v 1 ml) prakticky neuplatňovala v pivě *Candida*, *Hansenula* a nepomnožila se *Rhodotorula*. Kmeny *Saccharomyces carlsbergensis* se pomnožovaly velmi rychle, a to i při nejnižším počátečním obsahu (1 buňka v 1 ml) vytvořil se ve vzorcích piva sediment již průměrně za 7 dní.

Tabulky 4 až 7 uvádějí hodnoty zjištěné při obdobně provedených zkouškách s kmeny laktobacilů a pediokoků izolovanými z piva. I v těchto případech nastalo rychlé pomnožení laktobacilů v pivě i při relativně nízkém inokulu (1 zárodek v 1 ml). V 10% pivě se za těchto podmínek projevilo zřetelné pomnožení v rozmezí 7 až 11 dnů v závislosti na citlivosti jednotlivých izolátů, ve 12% pivě v rozmezí 8 až 12 dnů. Vyšší počáteční koncentrace laktobacilů se opět projevily úměrně sníženou trvanlivostí vzorků.

Izolované pediokoky se pomnožovaly za stejných pod-

míněk pomaleji. Tento rozdíl mezi rychlostí pomnožení izolovaných laktobacilů a pediokoků bude však třeba ještě ověřit.

Uvedené výsledky představují první část práce, která v současné době pokračuje šetřením vlastností mléčných bakterií izolovaných z různých zdrojů v pivovarské výrobě.

Literatura

- [1] ESCHENBECHER, F. — BACK, W.: Brauwiss. 29, 1976, s. 125
- [2] SOLBERG, O. — CLAUSEN, O. G.: J. Inst. Brew. 78, 1973, s. 227
- [3] ESCHENBECHER, F.: Brauwiss. 21, 1968, s. 424, a s. 464
- [4] BUCHANAN, R. E. — GIBBONS, N. E.: Eds: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th ed. Williams and Wilkins, Baltimore 1974
- [5] DEAN, R. T.: J. Inst. Brew. 63, 1957, s. 36
- [6] RAINBOW, C.: J. Inst. Brew. 64, 1958, s. 134
- [7] SHIMWELL, J. L.: J. Inst. Brew. 53, 1974, s. 37
- [8] WACKERBAUER, K. — EMEIS, C. C.: Monatschr. f. Br. 22, 1968, s. 3
- [9] HAAS, G. J. — FLEISCHMANN, A. J.: Wall. Lab. Com. 22, 1959, s. 297
- [10] BENDOVÁ, O. — KURZOVÁ, V.: Vliv mikrobiálních kontaminantů na jakost piva a metody jejich stanovení. Záv. zpráva VÚPS 1976
- [11] BENDOVÁ, O. — KURZOVÁ, V.: Vliv mikrobiálních kontaminantů na jakost piva a metody jejich stanovení. Záv. zpráva VÚPS 1976

Bendová, O. - Kurzová, V.: Vztah mikrobiálních kontaminantů k trvanlivosti piva. Kvas. prům., 26, 1980, č. 1, s. 3—5.

Článek informuje o výsledcích zkoušek, jejichž úkolem bylo stanovit kvantitativní vztahy mezi pivu škodlivými mikrobiálními kontaminanty a trvanlivostí piva. Pracovalo se s kvasinkami a laktobacily a pediokoky izolovanými z piva, jejichž doba pomnožení se sledovala v 10% a 12% pivě. Obdobné zkoušky byly provedeny i s kmeny kvasinek udržovanými ve sbírce Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Praze.

Бендова, О. — Курцова, в.: Влияние микробных загрязнений на стойкость пива. Квас. прум. 26, 1980, № 1, стр. 3—5.

Приведены результаты экспериментального исследования количественной зависимости между присутствием в пиве вредных микробных загрязнений и стойкостью пива. В качестве загрязняющих веществ применялись дрожжи, молочнокислые палочки и и педиококки, изолированные из пива. Изучалась скорость их размножения в 10° и 12° пиве. Сходным испытаниям подверглись также штаммы дрожжей, входящих в коллекцию Исследовательского института пивоваренно-солодильной промышленности в Праге.

Bendová, O. - Kurzová, V.: Effects of Microbial Contaminants Upon the Durability of Beer. Kvas. prům. 26, 1980, No. 1, pp. 3—5.

The article deals with the results of tests which have been carried out to study quantitative relation between the presence of harmful microbial contaminants and durability of beer. Yeast, lactobacilli and pediococci isolated from beer have been used in experiments and their propagation rates in 10° and 12° beer compared. Similar tests have been carried out with strains kept in the collection of Research Institute of Brewing and Malting Industries in Prague.

Bendová, O. - Kurzová, V.: Beziehung der mikrobiellen Kontaminanten zu der Haltbarkeit des Bieres. Kvas. prům. 26, 1980, No. 1, S. 3—5.

Der Artikel berichtet über die Ergebnisse der Versuche, deren Ziel die Bestimmung der quantitativen Beziehungen zwischen den bierschädlichen mikrobiellen Kontaminanten und der Haltbarkeit des Bieres war. Es wurde mit aus Bier isolierten Hefen, Lactobazillen und Pediokokken gearbeitet, deren Vermehrungsfähigkeit in 10 % und 12 % Bier verfolgt wurde. Ähnliche Versuche wurden auch mit den Hefestämmen durchgeführt, die sich in der Sammlung des Forschungsinstituts für Brauerei und Mälzerei in Prag befinden.