

Mikrobiologické problémy v praxi

663.41 663.452
579 663.1

Ing. JAN ŠAVEL, CSc., Ing. MARIE PROKOPOVÁ, Jihočeské pivovary, k. p., České Budějovice

Předneseno na XXIII. pivovarsko-sladařských dnech v Plzni

Klíčová slova: *pivovar, pivo, trvanlivost, selektivní metoda, spilka, otevřená kvasná nádoba, kvašení, sanitace, sanitační stanice, automatizace, kontaminace, zdroj, mikrobiologie, kontrola, systém eliminace*

Nutným a nezbytným předpokladem dosažení vysoké biologické trvanlivosti piva je kromě splnění dalších předpokladů dobré technické vybavení závodu, zahrnující nádoby s hladkými stěnami z nerezavějící oceli, vyhovující potrubí, hadice a armatury, automatizaci sanitačních a sterilačních operací a vhodné sanitační a dezinfekční prostředky.

V některých našich provozech pracujeme za horších podmínek a základní změny můžeme očekávat pouze se zlepšením technického stavu výrobního zařízení. Ale nepříznivé dopady nízké trvanlivosti piva nás nutí vypořádat se s těmito problémy co nejlépe.

Výroba piva je otevřený systém a udržet ji v aseptickém stavu je prakticky nemožné. Takové podmínky můžeme zajistit ve speciálních technologiích, např. při výrobě antibiotik.

Klíčovou otázkou dosažení vysoké trvanlivosti je za-

jištění nepřítomnosti takových mikroorganismů, které v hotovém výrobku působí negativně. Zde je vhodné vyjmenovat, jakými cestami se tyto organismy do piva dostávají. Jeden druh mikroorganismů tam záměrně dáváme, ale ve stočeném pivu kulturní kvasinky působí negativně.

Existují dva hlavní způsoby, jakými kontaminují mikroorganismy nahrazují svůj úbytek daný jejich vyplavováním ze systému. Mohou pevně lpět na stěnách zařízení a po zaplavení substrátem růst a uvolňovat buňky do okolí, nebo přetrvávat jako suspenze mikroorganismů v trhlínkách, jemných pórech a dutinách, např. mezi těsněním a přírubou, za ucpávkami atd.

Protékající pivo z těchto míst vyplavuje mikroorganismy a doplňuje živný substrát. To je v podstatě semi-kontinuální nebo kontinuální kultivace a hlubším matematickým rozbořením lze prokázat, jak nebezpečný je to mechanismus. K negativnímu ovlivnění denní produkce

pivovaru např. postačuje 1 ml piva s pomnoženými mikroorganismy. Toto množství se může nacházet ve zcela nekontrolovatelném místě.

Z mikrobiologického hlediska lze porovnat například dvě zařízení. Složitě zařízení, jakým je plnicí sudů Keg, bylo již z počátku navrženo s cílem udržet tento úsek téměř sterilní. Naopak, jednoduchý stavoznak na přetlačných tancích se kdysi vyráběl ze skla, rozebíral a čistil. Později se sklo nahradilo plastickou hmotou, a tím se znemožnilo rozebírání a čištění.

Vývojové a prototypové středisko Jihočeských pivovarů, k. p. nyní vyrábí přístroj, který se snaží tento nedostatek odstranit a sanituje stavoznaky i přívody vzduchu na tancích.

Jeden z mechanismů kontaminace můžeme snadno napodobit v laboratoři. Do živné půdy vložíme kousek těsnění a kultivujeme několik dní. Potom těsnění důkladně promýváme ve vodě nebo v čistících prostředcích. Tím sice můžeme obsah zachycených mikroorganismů snížit, ale zbývající mikroorganismy lpějí velmi pevně na těsnění. Ani intenzivní oplachování je neodstraní.

Nyní můžeme těsnění máčet v různých dezinfekčních prostředcích po různou dobu a po novém důkladném opláchnutí je znovu převést do živné půdy. Tyto zkoušky ukazují, že zbavit plochy nádob a těsnění mikroorganismů není nijak snadné a tento postup používají různé modifikace daného způsobu právě k testování dezinfekčních prostředků.

Takto zjistíme, že pro dezinfekci těsnění potřebujeme vysoké koncentrace dezinfekčních prostředků, které buď narušují materiál zařízení, nebo mohou po proniknutí do piva ohrozit jeho kvalitu, nemluvíme-li ještě o vysokých cenách těchto prostředků při zvyšování koncentrace. Tyto prostředky také do některých míst zařízení obtížně pronikají, a proto má dezinfekční prostředek s vysokým účinkem velkou cenu pro provozní praxi.

Při pasteraci piva usmrtí např. 20 pasteračních jednotek spolehlivě všechny škodlivé mikroorganismy a při laboratorních testech získáme podobné výsledky. Prohlédneme-li si však detail rámu deskového filtru nebo členitého povrchu křemelinového filtru, je zřejmé, že některá místa se prohřívají pomalu a teplo tam proniká pouze vedením materiálem filtru. Přitom jsou to zařízení zvenku chlazená prostředím.

Porovnáme-li např. účinnost sterilace filtru z kovu s dobrou tepelnou vodivostí a filtru z plastických hmot, přesvědčíme se o rozdílné účinnosti sterilace obou filtrů. Filtr z plastických hmot se steriluje podstatně hůře.

Filtr z plastických hmot má přitom řadu předností, je lehký, snáze se čistí a je také levnější. Z těchto úvah vyplývá, že místo 20 minut při 60 °C potřebujeme sterilovat podstatně více, podle druhu použitého zařízení a nedbáme-li toho, nedosáhneme požadovaného účinku. Při nevhodném technickém řešení je sterilace horkou vodou velmi obtížná a neúměrně také roste spotřeba energie.

Můžeme samozřejmě snížit obsah mikroorganismů v pivu účinnou filtrací, ale za prvé účinnost tohoto procesu není absolutní a za druhé, dříve nebo později mikroorganismy proniknou vrstvou filtračního materiálu. Můžeme také průtokově pasterovat, avšak v běžném provozu to není možné pro vysoké náklady a membránová filtrace není ještě všude dostupná.

Tím dospíváme k názoru, že kromě klasického čištění, které se často opírá o improvizované sanitační stanice a čistící zařízení, máme k dispozici pouze možnost, nejrychleji a správně najít zdroje kontaminace. K tomu napomáhá mikrobiologická kontrola.

Mikrobiologická kontrola prokazuje množství různých mikroorganismů a pokouší se najít vztah mezi takto získanými výsledky a trvanlivostí piva. Tím vlastně odkládáme rozmnožování mikroorganismů v pivu a v živných médiích za podobné.

Domníváme se, že to co prokážeme na mikrobiologických médiích, je také škodlivé. To je však často nesprávné. Je samozřejmé, že při negativním průkazu jakýchkoli mikroorganismů je vše v pořádku. S tím se ale v praxi téměř nesetkáme, nodaří se nám však prokázat mikroorganismy, které příliš neškodí. Ve vzorcích piva, procházejícího průtokovým pastérem, můžeme nalézt mikroorganismy a přitom pivo může mít vysokou trvanlivost.

K tomu musíme uvážit obtížnou dostupnost zdroje kontaminace ve skrytých místech. Velmi oblíbené stěrové metody zde při odhalování kontaminace často selhávají.

Pivo je nejen živné prostředí pro mikroorganismy, ale jejich růst rovněž potlačuje. Sacharidy, dusíkaté látky, anorganické soli a růstové faktory růst podporují, zatímco ethanol, hořké látky, oxid uhličitý růst potlačují. Rozpuštěný kyslík a pH mohou mít kladný i záporný vliv.

To všechno každý z nás dobře ví, ale málokdo si uvědomí, že na tom závisí úspěch mikrobiologické kontroly. Tam často používáme v pevné či tekuté formě prostředí, kde vzájemný poměr jmenovaných skupin látek je úplně jiný.

V praxi kontrolujeme mikrobiologickou čistotu piva často podle obsahu kvasinek, zjišťovaných kultivací na mladinovém agaru. Mějme čtyři vzorky stejného piva, které obsahuje stejné množství čtyř druhů kvasinek, *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Pichia membranaefaciens*.

Vzorky těchto piv zaočkovujeme do tekuté mladiny, na mladinový agar, na půdu s kyselinou jódovou pro průkaz cizích kvasinek a výsledky kultivací porovnáme s dosaženou trvanlivostí piva. Křís v tekuté mladině vypadá u *Pichia membranaefaciens* nebezpečně, všechny kvasinky rostou na mladinovém agaru a na půdě s kyselinou jódovou prokážeme jako cizí kvasinku *Pichia membranaefaciens*. A přitom nejrychleji kazily pivo *Saccharomyces diastaticus* a *Saccharomyces cerevisiae*, malou sedlinu tvořila *Saccharomyces uvarum* a *Pichia membranaefaciens*, prokazovaná ve všech použitých půdách v pivu nerostla a nemohla tedy způsobit jeho zkažení.

Tuto potíž můžeme odstranit vhodnějším testem, např. kultivací vzorků při 37 a 28 °C, ale i zde můžeme někdy nesprávně vykládat výsledky rozboru.

Ještě složitější situace je u mléčných bakterií. Podobně jako u kvasinek můžeme všechny druhy zachytit na univerzální živné půdě, ale za cenu, že nepoznáme, co je skutečně nebezpečné. Čím větší specifitu půdy získáme, tím se více přiblížíme růstu mikroorganismů v pivu, ale také prodloužíme dobu rozboru. V zahraničí se používají půdy s vyšší specifikou, ale definitivní řešení to ještě není.

Tím však nechceme říci, že vhodně volené půdy nám neusnadní práci. Přesto však v každém provozu doporučujeme napřed podrobný průzkum trvanlivosti. Jako základní rozbor nám jednoznačně zodpoví, na jakých místech provozu se trvanlivost zhoršuje, jaké máme možnosti ji zvýšit a výsledky tohoto hodnocení jsou každému v provozu srozumitelné, což se ale nedá vždy říci o jiných mikrobiologických rozbozech.

Tato technika je nejlépe použitelná u stáčecích cest, kde můžeme přímo sledovat trvanlivost odebraných vzorků piv. Znamená to volit vhodná odběrová místa, stejné odběrové kohouty a mít možnost rychle odebrat vzorek i u piva silně syceného oxidem uhličitým.

K odběru slouží speciální odběrová zátka, kterou se láhev naplní pivem bez pěny do dvou minut. Jiným přístrojem se pivo odebere z transportního soudu ihned po naplnění a můžeme tak sledovat trvanlivost sudového piva v láhvi při 20 °C. Z dlouhodobých výsledků sledování trvanlivosti je zcela jasné, co je nutno v sledovaném závodu řešit a jakých výsledků lze dosáhnout.

Popsaným postupem se sice získávají spolehlivé výsledky, ale v praxi požadujeme výsledky rychlejší, zejména při výrobě piva s vyšší trvanlivostí. Po aplikaci membránové filtrace můžeme filtry se zárodky dávkovat do pasterovaného piva, nebo do půd, které však musí prokazovat pouze nejškodlivější kmeny mikroorganismů.

Úspěch mikrobiologické práce závisí ve výběru vhodné techniky a hlavně ve výběru nejlepší půdy pro tento účel. Vývojová dílna Jihočeských pivovarů, k. p. nyní připravuje novou verzi soupravy pro membránovou filtraci.

Základní průzkum trvanlivosti také rozhoduje o maximální hodnotě, kterou je obvykle trvanlivost za deskovým filtrem. Je téměř nemožné rozlišit, zda při filtraci pronikají škodlivé mikroorganismy filtry, nebo zda pocházejí ze stěn nedostatečně vysterilovaného zařízení. Často se uplatňují oba mechanismy.

Kvalita piva, vstupujícího do filtru, je spolu s kvalitou

filtrace rozhodujícím činitelem ovlivňujícím trvanlivost piva. Musíme rozhodnout, zda kontaminace piva v předchozích fázích výroby je natolik závažná, aby se nedala snížit správně pracující filtrací. Tomuto problému bychom však museli věnovat zvláštní přednášku.

Z tohoto krátkého přehledu je zřejmé, že výrazně zvýšit trvanlivost piva v závodech s horším technickým vybavením je velmi obtížné. Bez úzké spolupráce dělníků, mistrů, kontroly a vedení závodu a bez nadšení pro společnou věc je to však zcela nemožné.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Mikrobiologické problémy v praxi. Kvas. prům. 33, 1987, č. 4, s. 102—104.

Článek pojednává o mikrobiologických problémech pivovaru s klasickým vybavením s otevřenými kvasnými nádobami a bez centrálních automatizovaných sanitálních stanic. Popisuje se mechanismus vzniku kontaminace v provozu a uvádějí se způsoby její eliminace. Provozní mikrobiologická kontrola může nalézt zdroje kontaminace, avšak nesprávný výklad výsledků a použití nevhodných kontrolních metod vedou k chybným závěrům. Doporučuje se kontrolní systém, založený na dlouhodobém sledování trvanlivosti piva v různých místech provozu a využívání rychlých a selektivních mikrobiologických metod.

Шавел. Я. - Прокопова, М.: Микробиологические проблемы на практике. Квас. прум. 33, 1987, № 4, стр. 102—104.

Статья рассматривает микробиологические проблемы пивоваренного завода с классическим оснащением, с открытыми бродительными чанами и без центральных автоматизированных санитарных станций. Описывается механизм возникновения контаминации в производстве и приводятся способы ее исключения. Производственный микробиологический контроль может найти источники контаминации, однако неправильное изложение результатов и применение неподходящих методов контроль приводят к ошибочным выводам. Рекомендуются контрольные

ная система, основанная на долговременном исследовании долговечности пива в разных местах производства и использование быстродействующих и избирательных методов.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Microbiological Problems in Practice. Kvas. prům. 33, 1987, No. 4, pp. 102—104.

The microbiological problems of a brewery with the classical equipment, i.e. with the opened fermentation vessels and without CIP are described. The mechanism of a contamination origin in the factory and possible ways for its elimination are discussed. The microbiological inspection can result in a determination of the contamination sources. However, the incorrect interpretation of results and an application of the incorrect inspection methods can lead to the bad conclusions. It is recommended to use the inspection system based on the long-term period of the beer stability at various places in the brewery and on the application of quick and selective microbiological methods.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Mikrobiologische Probleme in der Praxis. Kvas. prům. 33, 1987, Nr. 4, S. 102—104.

Der Artikel befasst sich mit den mikrobiologischen Problemen klassisch ausgestatteter Brauereien mit offenem Gärgefäßen und ohne zentrale automatisierte Sanitationsstationen. Es wird der Mechanismus der Entstehung der Kontamination im Betrieb beschrieben und die Verfahren zu ihrer Elimination angeführt. Die mikrobiologische Betriebskontrolle kann die Kontaminationsquelle entdecken, die unzutreffende Interpretation der Ergebnisse und die Applikation ungeeigneter Kontrollmethoden können aber zu falschen Schlussfolgerungen führen. Es wird ein Kontrollsystem empfohlen, das auf langfristiger Verfolgung der Haltbarkeit des Bieres in verschiedenen Betriebsabschnitten und auf der Ausnutzung schneller und selektiver mikrobiologischer Methoden basiert.