

Z výzkumu a praxe

Zkušenosti s kyselým praním kvasnic

Ing. Jiří KOZÁK, Ing. Michal KOŘÁN, Josef PROCHÁZKA,
Plzeňské pivovary a.s.

Klíčová slova: kvasnice, pH, kyselé praní, mléčné bakterie, kontaminace

663.12

Kyselé praní kvasnic používají sládci již mnoho let k eliminaci kontaminujících bakterií z pivovarských kvasnic. Uváděných způsobů praní pivovarských kvasnic a kyselého praní zvláště je celá řada. Ze starších prací vzpomeňme alespoň práce *Comptona* [1], *Janotkové* [2,3] či *Bendové* [4], z těch novějších např. práce *Simpsona* [5] a *Hammonda* [6]. K oživení používání kyselého praní kvasnic v posledních letech vedlo i zjištění, že kontaminace násadních kvasnic bakteriemi s nitrátreduktasovou aktivitou je úzce spjata s tvorbou ATNC (Apparent Total N-Nitroso Compounds) během hlavního kvašení.

V našich pokusech s kyselým praním kvasnic jsme vycházeli především z postupů a doporučení uvedených v "A Practical Guide to the Acid Washing of Brewers' Yeast" [7].

Podle tohoto sdělení lze kyselé prát všechny kmény pivovarských kvasnic. Působení kyseliny je velice selektivní na bakterie a bez většího poškození kvasnic.

MATERIÁL A METODY

K veškerým laboratorním pokusům i provoznímu ověřování byly použity kvasnice jediného kmene č. 95 (podle označení ve sbírce VÚPS).

K praní kvasnic byla použita 40% kyselina fosforečná určená pro potravinářské účely.

Základní body postupu pro kyselé praní kvasnic

- prát kvasnice po každém kvašení
- ke praní kvasnic použít kyselinu fosforečnou či citronovou pro potravinářské účely
- kvasnice je nutno zchladit před praním na teplotu pod 5 °C
- kvasnice je nutné míchat během přidávání kyseliny a průběžně po celou dobu praní
- pH kvasnic po přidavku kyseliny by mělo být v rozmezí 2,0 - 2,2
- doba praní kvasnic 60 minut
- bezprostředně po skončení praní je nutno kvasnice použít
- teplota kvasnic by neměla být během praní vyšší jak 5 °C
- neprát kvasnice déle než 2 hodiny
- neskladovat kyselé vyprané kvasnice
- neprát kvasnice, které byly skladované delší dobu (záleží na kvasničním kmenu)
- neprát silně kontaminované kvasnice a kvasnice z pomalého kvašení

- neaplikovat kyselé praní na kvasnice z kvašení vysokoprocenních mladin (obsah ethanolu vyšší než 8 % obj.)

Množství kyseliny potřebné k praní daného objemu kvasnic bylo zjištěno laboratorní adjustací pH kvasnic:

1. odměřit 250 ml dobře rozmíchaných kvasnic (pro lepší rozmíchání hustých kvasnic laboratorní míchačkou je možno k 250 ml hustých kvasnic přidat cca 1 ml kyseliny, kvasnice rychle zřednou a lze je již lépe míchat; toto množství je ale nutno započítat do konečné spotřeby kyseliny)
2. změřit pH kvasnic za neustálého míchání na magnetické míchače
3. za neustálého míchání a měření pH přidávat H_3PO_4 na hodnotu $pH = 2,1$
4. potřebné množství kyseliny na objem kvasnic se vypočítá podle vzorce:

$$V_{H_3PO_4} = \text{spotřeba } H_3PO_4 \times 4 \times V_{\text{kvasnic}}$$

kde: $V_{H_3PO_4}$ - objem kyseliny na praní (l)
spotřeba H_3PO_4 - laboratorní spotřeba kyseliny na 250 ml vzorku kvasnic (l)
 V_{kvasnic} - objem kvasnic, který se bude prát (l)

Mikrobiologické metody

Množství mrtvých buněk bylo stanoveno mikroskopicky po obarvení methylenovou modří [8].

Kontaminace koliformními bakteriemi byla sledována zaočkováním vzorků po jejich patřičném naředění na Endův agar (Imuna); ke stanovení kontaminace mléčnými bakteriemi byl použit VLB S7-S agar (Sartorius).

VÝSLEDKY A DISKUSE

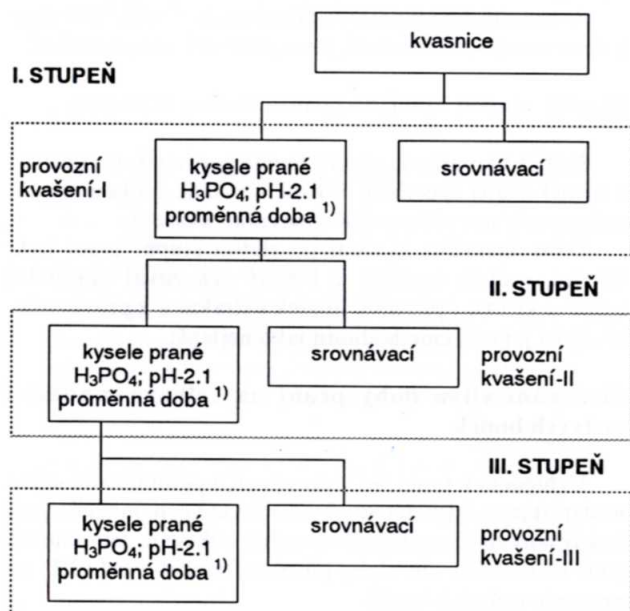
Provozní test kyselého praní kvasnic

Při návrhu optimálního postupu kyselého praní kvasnic jsme vycházeli z výsledků a zkušeností získaných z našich předchozích pokusů s kyselým praním kvasnic [9].

Nejprve jsme ověřili citovaný postup kyselého praní kvasnic (H_3PO_4 , 60 min, $pH=2,1$). Zjistili jsme, že účinně odstraňuje kontaminaci kvasnic koliformními i mléčnými bakteriemi, ovšem s vysokým podílem mrtvých

kvasničných buněk ve vypraných kvasnicích. Proto jsme se rozhodli sledovat množství mrtvých kvasničných buněk a míru kontaminace kvasnic v závislosti na délce doby praní. Vzorke kvasnic určené k analýzám byly během praní odebírány z vany v pravidelných časových intervalech. Předpokládali jsme, že z výsledků tohoto sledování by bylo možno určit optimální dobu praní kvasnic.

Schéma plánovaných testů



Praní kvasnic jsme navrhli ve třech stupních z důvodu ověření případné adaptace kvasnic na nižší pH při opakovaném praní.

Pro posouzení sedimentace, aktivity kyselého praného kvasnic a průběhu kvašení jimi zakvašené mladiny, jsme současně sledovali srovnávací kvašení mladiny, na jejíž zakvašení byly užity kvasnice, které byly totožné (tzn. ze stejného sběru) jako kvasnice, které byly kysele prané.

Celkem byly vždy zakvašeny 4 kádě. Dvě kádě byly zakvašeny várečnými kvasnicemi pranými kyselinou fosforečnou (dále jen P-kádě), dvě kádě - srovnávací (dále jen S-kádě) byly zakvašeny stejným množstvím kvasnic kysele nepraných.

I. stupeň provozního kvašení

V I. stupni našeho testu jsme docílili velmi dobré hodnoty pH provozních kvasnic po aplikaci kyseliny (2,15), teplota nepřesáhla 5 °C po celou dobu praní. Ihned po skončení praní byly kvasnice použity k zakvašení. Z tab. 1 je zřejmé, že se pH zakvašených mladin neliší: test - 5,20, srovnávací - 5,19.

Z mikrobiologického přehledu (tab.2) je zřejmé, že % mrtvých buněk stoupá s dobou praní a že po 45 minutách nebyly identifikovány mléčné bakterie. Z dosažených výsledků vyplývá, že optimální doba praní kvasnic je mezi 35 - 45 minutami. Při kratší době (30 min) byla ještě potvrzena přítomnost mléčných bakterií, při delší době (60 min) nebyly kvasnice mikrobiologicky kontaminovány, ale podíl mrtvých buněk (26,4 %) byl vysoký.

Tab. 1. Technologické údaje I. stupně praní

Objem praných kvasnic (l)	150
Množství přidané H ₃ PO ₄ (l)	5,220
pH kvasnic po přidavku H ₃ PO ₄	2,15
teplota kvasnic	před aplikací H ₃ PO ₄ 2,4 po aplikaci H ₃ PO ₄ 2,8 na konci praní 3,2
celková doba praní (min.)	60
pH mladiny	před zakvašením 5,4 po zakvašení: srovnávací 5,19 test-prané kv. 5,20

Tab. 2. Mikrobiologické výsledky I. stupně praní

	mrtv. b. %	KB počet v 1g	MB počet v 1g
kvasnice po 15' praní	24,0 ¹⁾	0	2 000
po 30'	15,7	0	1 000
po 45'	18,3	0	0
po 60'	26,4	0	0
srovnávací kvasnice po vyprání vodou	9,7	< 500	2 000

1) kvasnice nebyly pravděpodobně před odběrem dobře zhomogenizovány
Vysvětlivky:

mrtv.b. - mrtvé buňky
KB - koliformní bakterie
MB - mléčné bakterie

II. stupeň provozního kvašení

Ve druhém stupni praní kvasnic se nepodařilo nastavit pH provozních kvasnic na požadovanou hodnotu 2,0 - 2,1 (tab.3) pravděpodobně nedokonalým odměřením objemu kvasnic použitých k praní. Vzhledem k tomuto faktu jsme zkrátili celkovou dobu praní z uvažovaných 45 minut na 35 minut [7].

Z mikrobiologického přehledu (tab.4) je patrné, že již po dvaceti minutách kyselého praní nebyla potvrzena přítomnost mléčných bakterií. Zajímavý je také vzrůst podílu mrtvých buněk téměř o 5 % za 15 minut praní mezi 20. a 35. minutou.

Tab. 3. Technologické údaje II. stupně praní

Objem praných kvasnic (l)	150
Množství přidané H ₃ PO ₄ (l)	6,720
pH kvasnic po přidavku H ₃ PO ₄	1,73
teplota kvasnic	před aplikací H ₃ PO ₄ 5,8 po aplikaci H ₃ PO ₄ 6,0 na konci praní 6,2
celková doba praní (min.)	35
pH mladiny	před zakvašením 5,39 po zakvašení: srovnávací 5,26 test-prané kv. 5,10

Tab. 4. Mikrobiologické výsledky II. stupně praní

	mrtv. b. %	KB počet v 1 g	MB počet v 1 g
kvasnice po 20' praní	13,0	0	0
po 35'	17,8	0	0
srovnávací kvasnice po vyprání vodou	10,9	100	100

Tab. 5. Technologické údaje III. stupně praní

Objem praných kvasnic (l)	150
Množství přidané H_3PO_4 (l)	2,26
pH kvasnic po přidání H_3PO_4	2,22
teplota kvasnic	před aplikací H_3PO_4 4,2 po aplikaci H_3PO_4 4,8 na konci praní 4,8
celková doba praní (min.)	30
pH mladiny	před zakvašením 5,64 po zakvašení: srovnávací test-prané kv. 5,40

Tab. 6. Mikrobiologické výsledky III. stupně praní

	mrtv. b. %	KB počet v 1 g	MB počet v 1 g
kvasnice po 30' praní	13,1	0	0
srovnávací kvasnice po vyprání vodou	12,9	7	75

III. stupeň provozního kvašení

Ve třetím stupni pokusu (tab.5) jsme na základě předchozích dvou pokusů stanovili dobu praní na 30 min. Tato doba by měla být při použití pH již dostatečná k potlačení kontaminace a podíl mrtvých buněk by neměl přesáhnout únosnou mez.

Z mikrobiologického přehledu (tab.6) je patrné, že se předpoklady potvrdily. Kontaminace kvasnic mléčnými bakteriemi a koliformními bakteriemi byla po 30 minutách praní nulová a podíl mrtvých buněk u praných kvasnic byl stejně vysoký jako u kvasnic srovnávacích.

Poměrně zvýšený obsah mrtvých buněk i u srovnávacích vzorků ve všech třech stupních je pravděpodobně důsledkem toho, že byly použity kvasnice skladované 3 až 4 dny [9].

Charakteristika průběhu kvašení v provozních podmínkách

I. stupeň praní várečných kvasnic

Prvé fáze hlavního kvašení u P-kádí probíhaly velmi pomalu. Zaprašování a odrážení bylo téměř o 30 hodin

opožděno. Tento časový rozdíl se v průběhu dalšího kvašení prohluboval a konečná časová ztráta činila téměř tři dny. Přechod z bílých do hnědých kroužků byl pozvolný, kvasné pokrývky byly více zahnědlé a obsahovaly více vyloučených kalů. Rozdíly byly patrné také ze sledování odlišného snižování extraktu. U S-kádí tento úbytek korespondoval s běžným kvašením, zatímco u P-kádí byl úbytek extraktu pozvolnější. Jestliže bereme v úvahu srovnatelné podmínky pro kvašení u všech sledovaných kádí, můžeme říci, že doba hlavního kvašení byla u P-kádí 12 dní, u S-kádí 9 dní.

Po prvním stupni praní se tato metoda jevila, vzhledem k délce a intenzitě kvašení, jako provozně nevyhovující.

II. a III. stupeň kyselého praní várečných kvasnic

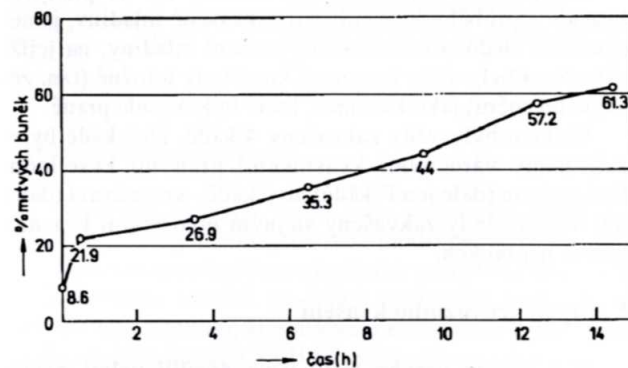
Průběh hlavního kvašení u těchto partií byl srovnatelný a neměl žádná specifika. P-kádě i S-kádě u obou stupňů vykazovaly normální průběh hlavního kvašení.

Doba hlavního kvašení po třetím stupni praní byla 10 dní, průběh kvašení u P-kádí vykazoval optimální teplotní křivku i příznivý úbytek extraktu a z provozního hlediska jej můžeme hodnotit jako nejlepší.

Sledování vlivu doby praní na celkové množství mrtvých buněk

Vzhledem k tomu, že v provozních podmínkách může nastat situace, kdy z technických důvodů není možné kyselé vypranými kvasnicemi okamžitě zakvasit, laboratorně jsme odzkoušeli vliv doby působení nízkého pH (2,1) na procento mrtvých buněk.

Laboratorně byly kvasnice kyselé prány za doporučených podmínek [7] a kvasnice byly po vyprání uloženy do chladničky.



Obr.1. Praní kvasnic kyselinou fosforečnou. Vliv doby skladování vypraných kvasnic na % mrtvých buněk

Pozn.: v čase 0 hodin byla přidána kyselina

Kvasnice byly uchovávány při teplotě 7,5 °C

Byl zjištěn počet mrtvých buněk před praním, ihned po skončení praní a dále ve tříhodinových intervalech po celkovou dobu 15 hodin. Výsledky jsou patrné z obr.1. Pro vysoký nárůst podílu mrtvých buněk z důvodu nízkého pH kyselé vypraných kvasnic, nelze takto vyprané kvasnice skladovat více hodin a je nutné s nimi ihned zakvasit.

Z Á V Ě R

1. K účinnému odstranění kontaminace várečných kvasnic koliformními i mléčnými bakteriemi je nutno prát kvasnice dle výše uvedeného postupu minimálně 30 min.
2. Kvasnice se opakovaným kyselým praním na snížené pH adaptují, procento mrtvých buněk se potom během kyselého praní zvýší jen nepatrně.
3. Kyselé vyprané kvasnice není možné skladovat, je nutné s nimi ihned zakvasit, jinak u nich dochází k značnému nárůstu mrtvých kvas.buněk.

LITERATURA

- [1] COMPTON,J., CRONYN,J., B.READ., W.,F.: Wall.Lab.Comm., 17, 1954, s.19
- [2] JANOTKOVÁ,O., ARPAL,J.: Kvasný prům., 4, 1958, s.223
- [3] JANOTKOVÁ,O., ARPAL,J.: Kvasný prům., 4, 1958, s.249
- [4] BENDOŮVÁ,O.: Kvasný prům., 12, 1966, s.148
- [5] SIMPSON,W., J.: J.Inst.Brew., 93, 1987, s.313
- [6] SIMPSON,W., J., HAMMOND,J., R., M.: Brauwiss., 1992, s.179
- [7] W.J.SIMPSON a R.M.HAMMOND: A Practical Guide to the Acid Washing of Brewers Yeast, Brewing Research Foundation
- [8] ŠAVEL,J.: Mikrobiologická kontrola v pivovarech, SNTL Praha, 1980, s.131
- [9] Shrnutí zkušeností s praním várečných kvasnic v Plzeňských pivovarech; vnitropodniková zpráva, nepublikováno

Lektoroval Ing.Jan ŠAVEL,CSc.

Do redakce došlo 31.3.1993

KOZÁK,J.-KOŘÁN,M.-PROCHÁZKA,J.: Zkušenosti s kyselým praním kvasnic. Kvas.prům., 39, 1993, č.7, s.194 - 197

Článek se zabývá problematikou kyselého praní pivovarských kvasnic. Byla potvrzena účinnost uvedeného způsobu

kyselého praní při odstraňování bakteriální kontaminace kvasnic a schopnost postupné adaptace kvasinek k nižším hodnotám pH při opakovaném kyselém praní. Popsaný způsob praní kvasnic byl ověřen v provozním měřítu s pozitivními výsledky.

Козак, Ю. - Коржан, М. - Прохазка, И.: Опыт по кислой стирке дрожжей. Квас. прум., 39, 1993, № 7, стр. 194 - 197

Статья занимается проблематикой кислой стирки пивных дрожжей. Была подтверждена эффективность приведенного способа кислой стирки при устранении бактериальной контаминации дрожжей и способность постепенной адаптации дрожжей к более низким величинам pH при повторяющейся кислой стирке.

Описанный способ стирки дрожжей был проверен в производственном масштабе с положительными результатами.

KOZÁK,J.-KOŘÁN,M.-PROCHÁZKA,J.: New Facts about Acidic Washing of Yeasts. Kvas.prům., 39, 1993, No.7, pp 194 - 197.

The article deals with questions of acid washing of brewer's yeast. An influence of mentioned method of acid washing with an elimination of a bacterial contamination of yeast and their ability of a successive adaptation to lower pH by a repeated acid washing was confirmed. The mentioned method of the acid washing was tested at working scale with positive results.

KOZÁK,J.-KOŘÁN,M.-PROCHÁZKA,J.: Erfahrungen mit dem saueren Hefewaschen. Kvas.prům., 39, 1993, No.7, S. 194 - 197

Der Artikel befaßt sich mit der Problematik des sauren Waschens von Bierhefekulturen. Die Wirksamkeit dieser Methode bei der Eliminierung der bakteriellen Kontamination der Hefekulturen, sowie bei der schrittweisen Anpassung der Hefen an niedrigere pH-Werte bei mehrfachem sauren Waschen, konnte nachgewiesen werden. Die beschriebene Art des Waschens von Hefekulturen wurde mit positiven Ergebnissen im Produktionsbereich eingesetzt.