

# Mikroekologické faktory podliehajúce aktivite kvasiniek v poživatinách

663.13 663.44

Prof. Dr. TIBOR DEÁK, Poľnohospodárska a potravinárska univerzita, Budapešť

**Kľúčové slová:** mikroekologický faktor, kvasinky, ekológia kvasiniek, poživatiny, aktivita, nealkoholické nápoje, stabilita, kazenie poživatín, konzervačné prostriedky, xerotolerancia kvasiniek, tolerancia kvasiniek proti konzervovadlám

Prednesené na III. trilaterálnej konferencii o kvasinkách 6.—10. 4. 1987 v Smoleniciach

Mikrobiálna ekológia poživatín vrátane nápojov sa v posledných rokoch stala široko prijatým konceptom, ktorý umožňuje pochopiť aktivitu a úlohu mikroorganizmov pri kazení poživatín, ako aj ich možné využitie v biotechnológii potravín. Eliminovať mikrobiálne kazenie poživatín a nápojov možno jedine pri pochopení príčin tohoto kazenía v súvislostiach ekológie a fyziológie zúčastnených mikroorganizmov.

Princípy mikrobiálnej ekológie poživatín, skôr než by sme ju špecifikovali pre kvasinky, spočívajú

- vo veľkej rozmanitosti pôvodnej mikroflóry,
- v selekčnom tlaku ekologických faktorov,
- v charakteristickom mikrobiálnom spoločenstve pre každú poživatinu zvlášť,
- v združovaní faktorov kazenía sa poživatín.

Poživatiny možno považovať za ekologické miesta, kde sa môžu vyskytovať veľmi rozmanité mikroorganizmy. Len isté typy sa z nich vyselektujú dôsledkom tlaku ekologických faktorov. Tieto typy vytvárajú tak mikroflóru, ktorá je charakteristická pre každú poživatinu a nápoj. Ak to okolnosti dovoľia, môžu sa združiť do spoločenstiev, ktoré poživatinu kazia. Tento sled rôznych nežiadúcich mikrobiologických aktivít je určený rozličnými ekologickými podmienkami:

- osídlením (kolonizáciou),
- vnútornými faktormi,
- vonkajšími faktormi,
- nevyhnutnými parametrami,
- výrobou a spracovaním poživatiny.

Pod osídlením či kolonizáciou rozumieme kontamináciu poživatiny z rôznych prameňov prostredia. Vnútorné a vonkajšie faktory zahŕňujú parametre a charakteristiky samotnej poživatiny, prostredie, ktoré poživatinu obklopuje, a fyziologické vlastnosti mikroorganizmov. Samotné spracovanie a výroba spôsobujú drastické zmeny týchto faktorov. Zahŕňujú okrem technologických operácií aj hygienické prostriedky a opatrenia.

V mnohých praktických situáciách je aktivita vody  $a_w$  dominantným faktorom prostredia, ktorý riadi stabilitu alebo kazenie poživatiny (tabuľka 1). Kým väčšina baktérií nemôže rásť pod  $a_w$  0,95, kvasinky rastú: zodpovedajú za skazu niektorých poživatín s nižšou aktivitou vody.

Malá skupina kvasiniek je schopná rásť pri vysokej koncentrácii sacharidov a solí. Označujú sa zvyčajne ako osmofilné. Toto označenie je však veľmi nepresné, pretože všetky kvasinky rastú lepšie pri značne vyšších hladinách  $a_w$ , než je ich minimum. Túto pozoruhodnú fyziologickú vlastnosť možno výhodne označiť výrazom xerotolerancia (tabuľka 2).

Tabuľka 1. Aktivita vody a rast kvasiniek v niektorých poživatinách

Rozmedzie $a_w$	Inhibované mikroorganizmy	Príklady poživatín
0,95	kvasinky zvyčajne rastú	čerstvé potraviny podliehajúce skaze
0,87—0,80	väčšina kvasiniek rastie ( <i>Zygosaccharomyces bailii</i> )	koncentráty ovocných štiav
0,75—0,60	xerotolerantné (osmofilné) <i>Zygosaccharomyces</i> rastú	med, sušené ovocie

Tabuľka 2. Niektoré xerotolerantné kvasinky poživatín

Druh kvasiniek	Rast v	
	50	60
% hmotn. glukózy		
<i>Candida versatilis</i>	+	+
<i>Citeromyces matritensis</i>	+	+
<i>Debaryomyces hansenii</i>	+	+
<i>Pichia etchellsii</i>	+	+
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	+	±
<i>Torulasporea delbrueckii</i>	+	±
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	+	±
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	+	+

Tolerancia rôznych kvasiniek voči  $a_w$ -stresu môže nastať dôsledkom ich schopnosti akumulovať tzv. kompatibilné rozpustné látky, napr. polyóly, vnútri bunky. Tieto rozpustné látky nahradzujú bunkovú vodu bez toho, že by narušili normálnu funkciu kvasničnej bunky.

Toto je všeobecne prijaté vysvetlenie, no naše vedomosti o uvedenom zvláštnom fyziologickom chovaní kvasiniek ešte zďaleka nie sú dokonalé.

Pri vyššej aktivite vody sú baktérie hlavnými škôdcami poživatín. Tu hrá pH rozhodujúcu úlohu. Umožňuje kvasinkám, ktoré všeobecne vykazujú optimálne pH pre svoju aktivitu v kyslej oblasti, aby baktérie prerástli.

Väčšinu druhov a kmeňov kvasiniek pH v širokom rozsahu neovplyvňuje: vykazujú rezistenciu aj k extrémne nízkym hodnotám pH (tabuľka 3).

Tabuľka 3. Minimálne pH pre rast kvasiniek

Druh kvasiniek	pH
<i>Brettanomyces intermedius</i>	1,8—2,4
<i>Candida krusei</i>	1,3—1,7
<i>Pichia membranaefaciens</i>	1,9—2,1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,6—2,0
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	2,2—2,5

Tabuľka 4. Niektoré psychrotrofné druhy kvasiniek

Druh kvasiniek	Rozsah rastu (°C)
<i>Brettanomyces naardensis</i>	5—30
<i>Candida mesenterica</i>	5—28
<i>Leucosporidium scottii</i>	0—25
<i>Sporobolomyces puniceus</i>	2—20
<i>Trichosporon pullulans</i>	5—25

Z rôznych vonkajších ekologických faktorov, ktoré ovplyvňujú aktivitu kvasiniek v poživatinách, je teplota najdôležitejšia. Z praktického aspektu treba uvažovať dva účinky teploty. Jedným z nich je vplyv na rast: kým len niektoré kvasinky vyskytujúce sa v poživatinách sú schopné rásť pri  $> 40^\circ\text{C}$  (napr. *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Hansenula anomala*, *Pichia farinosa*), kvasinky, ktoré rastú pri nižších teplotách 0 až  $8^\circ\text{C}$ , sú celkom bežné (tabuľka 4).

Z uvedeného vyplýva, že poživatiny s prechodnou vlh-

kosfou a nízkym pH uchovávané v chlade môžu kvasinky napadnúť a skaziť. Preto by sa mali uvažovať ďalšie opatrenia, ktoré by životnosť (stabilitu) poživatín a nápojov predĺžili.

Druhým účinkom teploty je deštrukcia buniek teplotom. Stupeň rezistencie kvasiniek proti teplu nemožno zďaleka porovnať s extrémne vysokou rezistenciou bakteriálnych spór (tabuľka 5).

Kombinácie času a teploty, inaktivujúce kvasinky práve nad maximálnym limitom teploty rastu, sú celkom malé. Sú vyjadrené hodnotami  $D$ , t. j. časom, ktorý sa požaduje pri danej teplote na inaktiváciu 90 % živej populácie kvasiniek. Možno ich vyjadriť v niekoľkých minútach.

Tabuľka 5. Tolerancia vegetatívnych buniek a spór niektorých druhov kvasiniek voči teplu

Druh kvasiniek	Veget. bunky		Spóry	
	$D$ 60 °C	hodn. $z$	$D$ 60 °C	hodn. $z$
	(min)	(°C)	(min)	(°C)
<i>Pichia membranaefaciens</i>	0,02	2,85	0,40	5,25
<i>Torulaspota delbrueckii</i>	0,18	5,40	0,63	7,82
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,02	2,65	0,40	4,70

Iným parametrom je hodnota  $z$ , ktorá vyjadruje rezistenciu kvasiniek proti teplu, t. j. zvýšenie teploty v °C požadované na zníženie hodnoty  $D$  na 1/10.

V ostrom kontraste s veľkým rozdielom v rezistencii proti teplu medzi vegetatívnymi bunkami a spórmi baktérií, pri kvasinkách nie je tolerancia sexuálnych spór voči teplu oveľa vyššia ako pri vegetatívnych bunkách: je maximálne 10 až 100krát vyššia (tabuľka 6).

Tabuľka 6. Odoľnosť askospór kvasiniek proti teplu

Kmeň kvasiniek	°C	$D$ (min)	$z$ (°C)
<i>Zygosaccharomyces bailii</i> kmeň 149	59	10,2	4,1
	60	7,0	
	61	4,3	
	62	1,7	
<i>Saccharomyces chevalieri</i> kmeň 65	59	13,5	5,3
	60	8,5	
	61	5,0	
	62	3,5	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> kmeň 271	59	23,4	5,5
	60	15,6	
	61	9,8	
	62	6,2	

Za praktických situácií môžu zložky poživatiny prepozičovať ochranný účinok proti deštrukcii kvasničných buniek teplotom. Sacharidy a NaCl, bežné zložky poživatín, majú pri zahrevení výrazný ochranný účinok voči kvasinkovým bunkám. Na druhej strane pôsobia nízke pH a konzervačné prostriedky pri inaktivácii kvasiniek synergicky s teplotom. Tieto kombinované účinky podrobili podrobnému štúdiu. 3–6% NaCl poskytuje väčšine kvasiniek, ktoré sa vyskytujú v poživatinách, ochranný účinok proti inaktivácii zahrevením. Výraznou výnimkou sú *Rhodotorula rubra* a *Debaryomyces hansenii*. Rýchlosť inaktivácie *R. rubra* sa zvýši pri všetkých koncentráciach kuchynskej soli, kým známe xerotolerantné *D. hansenii*, ktoré vykazujú osobitne vysokú toleranciu voči soli, majú zvýšenú rezistenciu proti teplu do 12 °C NaCl.

Prídavok 0,5 alebo 1 g.l<sup>-1</sup> sorbanu draselného alebo benzoanu sodného spôsobuje bez výnimky rýchlejšiu inaktiváciu kvasiniek. Dokázalo sa, že 0,1 a 0,5 g.l<sup>-1</sup> sorbanu alebo benzoanu inhibovali vždy rast *Zygosaccharomyces bailii* pri obsahu sacharózy 0 %, 30 % a 50 % v prostredí. Kým obe konzervačné látky zvýšili rýchlosť inaktivácie, prídavok sacharózy chránil bunky pred deštrukciou teplotom.

Uvedené skutočnosti treba zväziť, keď sa formulujú pasterizačné režimy pre určité poživatiny a nápoje, ktoré obsahujú pomerne vysoké koncentrácie sacharidov a soli. Zvýšenú citlivosť buniek voči teplu za prítomnosti konzervačných prostriedkov možno využívať tak, že sa zníži množstvo energie požadovanej pri tepelnom ošetrovaní.

Niekedy zlyhajú malé množstvá konzervovadiel a neprinášajú očakávaný a požadovaný účinok. Autor tohto príspevku a B. Novák pred mnohými rokmi dokázali, že kvasinky metabolizujú kyselinu sorbovú, čo potvrdili aj iní autori (tabuľka 7). Poukázali dokonca na degradáciu benzoanu kvasinkami.

Sú však známe aj také kmene a druhy kvasiniek, ktoré síce konzervačné látky neodbúravajú, sú však proti nim mimoriadne tolerantne. Rezistencia sa vysvetľuje predovšetkým z aktivity indukovaného, energiu vyžadujúceho „čerpáča“, ktoré transportuje molekuly konzervovadla z bunky do prostredia. V rozpore s takýmto vysvetlením sa v laboratóriu Dr. A. Kotyky v Prahe zistilo, že kyselina sorbová je efektívnym rozpojavačom zásoby energie pre aktívny transport.

Tabuľka 7. Degradácia kyseliny sorbovej kvasinkami

Druh kvasiniek	Percento zníženia 500 mg . kg <sup>-1</sup> kyseliny sorbovej za		
	24 h	48 h	72 h
<i>Candida tropicalis</i>	44	46	100
<i>Issantchenkia orientalis</i>	0	0	8
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	10	70	100
<i>Pichia jadinii</i>	16	44	100
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	0	0

Ak sa porovnajú hlavné a priemerné vlastnosti nealkoholických nápojov s fyziologickými vlastnosťami kvasiniek, je zjavné, že nealkoholické nápoje vyhovujú rastovým požiadavkám kvasiniek a zabezpečujú im uspokojujúce ekologické miesta pre ich rast (tabuľka 8).

Najdôležitejším limitujúcim faktorom rastu kvasiniek je nízka zásoba dusíka a zdrojov vitamínov; platí to najmä v nealkoholických nápojoch, ktoré neobsahujú prírodné ovocné koncentráty, sú vytvorené so syntetickými chuťovými aditívami.

Tabuľka 8. Porovnanie priemerných vlastností nealkoholických nápojov a rastových požiadaviek kvasiniek

Parameter	Nealkoholický nápoj	Kvasinky
Voda (%)	80–99	Rozmedzie rastu $a_w$ 0,75–0,99
Sacharid (%)	0,5–15,0	skvasiteľný zdroj uhlíka
Obsah dusíka (%)	10 <sup>-4</sup> –10 <sup>-1</sup>	anorganické dusíkaté soli
Vitamin B (%)	stopy až 10 <sup>-4</sup>	väčšina kmeňov nevyžaduje
Anorganické soli (%)	10 <sup>-4</sup> –10 <sup>-1</sup>	fosforečnan draselný
pH	2,5–4,0	rozmedzie rastu 1,5–9,0
pCO <sub>2</sub> (kPa)	50–350	optimum 4,5–5,5 fungistaticky > 0,8 MPa

Kvasinky však môžu rásť aj na anorganických dusíkatých soliach. Niektoré bežné druhy kvasiniek poživatín nevyžadujú pre svoj rast vitamíny, napr. *H. anomala*, *Issantchenkia orientalis*, *P. humboldtii* ai. Preto možno kvasinky označiť za skutočne častých škôdcov týchto nápojov. Spofahlivú ochranu možno docieľť vhodným tepelným ošetrovaním a prídavkom konzervačného prostriedku.

Vo výrobných závodoch treba dbať, aby sa zabránilo vytvoreniu populácie adaptovaných kmeňov kvasiniek. Najväčšie ťažkosti predstavujú pre výrobcov poživatín, a najmä nápojov, *Zygosaccharomyces bailii* (tabuľka 9). *Z. bailii* sú známe škodlivé kvasinky, ktoré bývajú zapletené do skazy širokej palety potravín, vrátane neal-

Tabuľka 9. Technologicky významné vlastnosti *Zygosaccharomyces bailii*

Vlastnosť	Rozsah
Rast v produkte v rozsahu pH	<2 a >7
Tolerancia voči organickým kyselinám	2,5 % obj. [kys. octovej]
Rast v produktoch s vysokou konc. sacharidu	70 % hmotn. sacharózy
Tolerancia voči teplu	62,5 °C, 10 min
Tolerancia voči kyseline benzoovej	>1000 mg · kg <sup>-1</sup>
Tolerancia voči kyseline sorbovej	>800 mg · kg <sup>-1</sup>
Tolerancia voči molekulej SO <sub>2</sub>	>3 mg · kg <sup>-1</sup> molekul. SO <sub>2</sub>
Tolerancia voči etanolu	20 % obj.
Tolerancia voči čistiacim a dezinfekčným prostriedkom	?

koholických nápojov a vín. Sú veľmi nebezpečné pre svoju mimoriadnu toleranciu voči konzervačným prostriedkom, voči vysokej koncentrácii sacharidov a etanolu, a voči nízkemu pH. Vykazujú rezistenciu aj proti kyseline octovej, čo prispieva o. i. k ich identifikácii.

Eliminovať škodlivé *Z. bailii* a podobné kvasinky možno len pri poznaní príčin kazení potravín cestou mikrobiálnej ekológie, napr. zistením zdrojov kontaminácie, ovládaním vnútorných a vonkajších faktorov prostredia v súvislosti s fyziológiou mikroorganizmov.

Je isté, že ekologické prieskumy a analýzy tohoto druhu by určite prispeli k zlepšeniu technológií výroby a kvality produktov.

Z anglického originálu preložil: E. MINÁRIK

Lektoroval Ing. Jiří Uher, GSC.

**Deák, T.: Mikroekologické faktory podliehajúce aktivite kvasiniek v požívatinách.** Kvas. prům., 34, 1988, č. 2, s. 45—47.

Uvádžajú sa princípy ekológie kvasiniek v požívati-

nách vrátane nápojov a podmienky, za ktorých možno neziadúcej aktivite týchto mikroorganizmov, vedúcej k skaze požívatin, zabrániť. Zdôrazňuje sa význam eliminácie, resp. inaktívácie škodlivej mikroflóry kvasiniek fyzikálnou a chemickou cestou.

**Deák, T.: Микроэкологические факторы, подвергающиеся активности дрожжей в пищевых продуктах.** Квас. прум., 34, 1988, № 2, стр. 45—47.

Приводятся принципы экологии дрожжей в пищевых продуктах, включая напитки, и условия, при которых можно препятствовать нетребуемой активности этих микроорганизмов, приводящей к их порче. Подчеркивается значение элиминации, или же инактивации вредной микрофлоры дрожжей физическим и химическим путем.

**Deák, T.: Microecological Factors Underlying the Activity of Yeasts in Foods.** Kvas. prům., 34, 1988, No. 2, pp. 45—47.

Principles of ecology of yeasts in foods and beverages, and conditions preventing the undesirable activity of food spoiling microorganisms, are presented. The importance of elimination or inactivation of harmful yeasts by physical and chemical means is underlined.

**Deák, T.: Mikroökologische Faktoren die der Aktivität von Hefen im Genussmitteln unterliegen.** Kvas. prům., 34, 1988, Nr. 2, s. 45—47.

Prinzipien der Ökologie von Hefen in Genussmitteln und Getränken, sowie Bedingungen der unerwünschten Aktivität dieser Mikroorganismen, die zum Verderb führen, werden angeführt. Die Bedeutung der Eliminierung bzw. Inaktivierung der schädlichen Mikroflora von Hefen durch physikalische und chemische Massnahmen wird unterstrichen.