

Z výzkumu a praxe

Úprava kvasničného mléka kyselinou octovou k potlačení bakteriální kontaminace pekařského droždí

663.14.636:661.731 663.14:579.8

Ing. JOSEF FABIÁN CSc., Ing. JIŘINA PÁSKOVÁ CSc., Výzkumný ústav koncernu Konzervárny a lihovary, Praha

Výsledky laboratorních pokusů byly předneseny na celostátním semináři „Pokroky ve fermentačné technologii, 1980. Modra - Piešky

Baktérie, které na agaru s desoxycholanem sodným (DC-agar) rostou v koloniích za současné tvorby sirovodíku (H_2S -baktérie) mohou upozorňovat na výskyt určitých podmíněn patogenních druhů, např. *Citrobacter sp.*, *Proteus morganii* apod. Nejsou proto v pekařském droždí z hygienického hlediska přípustné.

Při výrobě droždí může ovšem někdy nastat kontaminace těmito baktériemi, droždí je pak ze zdravotních důvodů považováno za závadné a jako znehodnocené se nesmí použít bez předchozího tepelného ošetření. Se zřetelem na všeobecný nedostatek základní suroviny pro výrobu droždí (melasy) znamená vyřazení znehodnoceného pekařského droždí z tržních fondů potravin pro výrobce citelnou ztrátu.

Vzhledem k tomu, že kultivační detekce kontaminantů má časové zpoždění za výrobou, v případě kontaminace přichází v úvahu jedinou možnost účinného ošetření kvasničného mléka před lisováním, resp. filtrací, aby finální výrobek byl nezávadný. Aplikace známých antiseptik naráží na nepřípustnost reziduí cizorodých látek, nehledě na event. narušení biologické aktivity droždí.

Z dostupných a zdravotně nezávadných látek byla proto k ošetření kvasničného mléka zvolena kyselina octová. Její vliv na bakteriální kontaminaci, fermentační aktivity a senzorické vlastnosti droždí je předmětem této práce.

MATERIÁL A METODY

Kontaminované kvasničné mléko z droždárny 120 až 160 g sušiny l^{-1} bylo po přídavku kyseliny octové v koncentraci od 0,1 % do 1 % uloženo na 24 hodin při teplotě $+5^{\circ}\text{C}$. V provozních pokusech byla kyselina octová přidávána za míchání přímo do ochlazených sborníků s kvasničným mlékem. Potom bylo míchání zastaveno. Byla použita 98% kyselina octová p. a. Lachema, Brno, v provozních pokusech také kvasný ocet s obsahem 7,33 % kyseliny octové. Počet baktérií byl sledován plotnovou kultivací zředěných vzorků na masopeptonovém agaru, agaru s desoxycholanem sodným (DC-agar Imuna, n. p., Šarišské Michalany), Endové agaru. Mohutnost kynutí droždí byla stanovena podle ČSN 56 0188 s přepočtem hmotnosti vzorku podle obsahu sušiny. Pro stanovení sušiny byl použit přístroj Ultra-X (A. Gronert-Kachtenhausen) po kalibraci s klasickou metodou sušení do konstantní hmotnosti při 105°C .

VÝSLEDKY A DISKUSE

1. Laboratorní pokusy

Z obrázku 1 je zřejmé, že přítomnost kyseliny octové v účinných koncentracích [1,2] nevyvolá v suspenzi kva-

Tabulka 1. Vliv kyseliny octové na počet baktérií v kvasničném mléce

| CH_3COOH [%] | pH | Počet baktérií v 1 ml kvasničného mléka | |
|---------------------------------|------|--|------------------|
| | | koliformní | H_2S -baktérie |
| 0 (kontrola) | 4,65 | 130 | 13 |
| 0,1 | 4,35 | 84 | 8 |
| 0,5 | 3,90 | 49 | 0 |
| 1,0 | 3,65 | 26 | 0 |

Tabulka 2. Vliv koncentrace kyseliny octové a doby působení na MK a počet baktérií v kvasničném mléce

| Koncentrace kyseliny octové [%] | pH | Mohutnost kynutí (MK - min) | | | Počet baktérií v 1 ml vzorku po 48 h |
|--|-----|--------------------------------|-----|-----|--|
| | | den | 1. | 3. | |
| 0 (kontrola) | 4,9 | 83 | 80 | 89 | $4,2 \cdot 10^5$ |
| 0,05 | 4,6 | 84 | 85 | 87 | $7,5 \cdot 10^4$ |
| 0,10 | 4,4 | 85 | 90 | 79 | $7,5 \cdot 10^3$ |
| 0,25 | 4,1 | 80 | 96 | 84 | $4,7 \cdot 10^2$ |
| 0,50 | 3,9 | 94 | 92 | 96 | 7,5 |
| 0,75 | 3,8 | 96 | 103 | 129 | 2,5 |
| 1,00 | 3,6 | 146 | 169 | 236 | 0 |

sinek značný pokles pH, který by mohl ohrozit kvasnou aktivitu droždí.

Z výsledků znázorněných v tab. 1 vyplývá, že vlivem 0,5 % kyseliny octové byl snížen počet koliformních baktérií téměř na 1/3 původní hodnoty. Nález baktérií, uvolňujících na DC-agaru sirovodík se změnil na negativní.

Byle důležité rovněž zjistit vliv kyseliny octové na mohutnost kynutí droždí, vystaveného dlouhodobému působení kyseliny octové. Kvasničné mléko jsme v těchto pokusech uměle kontaminovali baktériemi, které jsme dříve z kvasničného mléka izolovali. Po přídavku kyseliny octové na koncentraci 0,05 až 1 % byly vzorky uloženy při $+5^{\circ}\text{C}$ po dobu 1 týdne, přičemž byly u vzorků sledovány změny v mohutnosti kynutí a počet přežívajících baktérií. Jak je patrné z tabulky 2, kyselina octová v koncentraci 0,25 až 0,5 % téměř neovlivnila mohutnost kynutí droždí ani jeho trvanlivost, zatímco kontaminující baktérie byly takřka zcela potlačeny během 48 hodin. Ve skutečnosti má ztráta životaschopnosti u baktérií vlivem kyseliny octové v čase od 0 do 8

Tabulka 3. Vliv kyseliny octové na mohutnost kynutí (MK) a počet kaliformních baktérií kvasničného mléka

| pH | Doba působení kyseliny octové [h] | Počet baktérií v 1 ml kvasničného mléka | | MK [min] |
|--------------------|-----------------------------------|---|------------------|----------|
| | | H ₂ S-baktérie | ostatní baktérie | |
| 5,05 (kontrola) | 0 | 20 | 665 | 87 |
| | 0 | 42 000 | 70 500 | 87 |
| 4,20 | 2 | 16 000 | 20 000 | 83 |
| | 4 | 1 350 | 2 750 | 79 |
| | 6 | 300 | 150 | 83 |
| | 24 | 275 | 100 | 84 |
| 4,15 | 2 | 10 400 | 9 000 | 87 |
| | 4 | 200 | 950 | 88 |
| | 6 | 0 | 0 | 86 |
| | 24 | 25 | 50 | 76 |
| 3,80 | 2 | 7 000 | 8 000 | 90 |
| | 4 | 800 | 1 350 | 87 |
| | 6 | 0 | 0 | 72 |
| | 24 | 0 | 0 | 83 |
| 3,60 | 2 | 0 | 0 | 124 |
| | 4 | 0 | 0 | 140 |
| | 6 | 0 | 0 | nekyne |
| | 24 | 0 | 0 | nekyne |

hodin exponenciální průběh (obr. 2) a rychlosť zásahu je samozřejmě ovlivněna zvyšující se koncentrací kyseliny octové a poklesem pH (tab. 3).

Z tabulky 3 jsou zřejmě mezní hodnoty, kdy sice rychle bez zbytku potlačíme kontaminující bakteriální mikroflóru v kvasničném mléce, ale zároveň nepříznivě ovlivní mohutnost kynutí ošetřeného droždí.

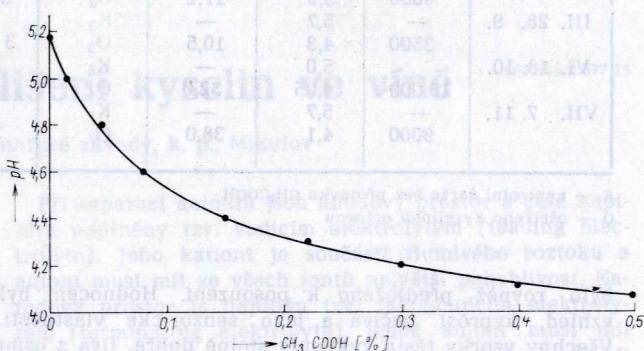
2. Ošetření kvasničného mléka kyselinou octovou v provozním měřítku

Kvasničné mléko po separaci bylo rozděleno na dva díly, z nichž první — kontrolní byl bezprostředně po separaci filtrován ve vakuových filtrech a dále zpracován na liberkové droždí. Druhý podíl byl přepuštěn do sběrné chlazené nádoby, kde bylo kvasničné mléko okyseleno příslušným množstvím kyseliny octové na hodnotu pH 3,7 až 4,3 (Výsledná koncentrace kyseliny octové asi 0,4 %) zpracováno na liberkové droždí až po různě dlouhé době působení kyseliny octové. Z výsledků uvedených v tab. 4 vyplývá, že ošetřením kvasničného mléka silně kontaminovaného baktériemi je možno vyrobít droždí zbavené vitálních koliformních baktérií (H₂S-baktérie), které může být použito jako droždí pekařské. Přidávek kyseliny octové nezhoruje mohutnost kynutí droždí, pokud není kvasničné mléko provzdušňováno, pH 4,0 také brání růstovému využití acetátu kvasinkami [3].

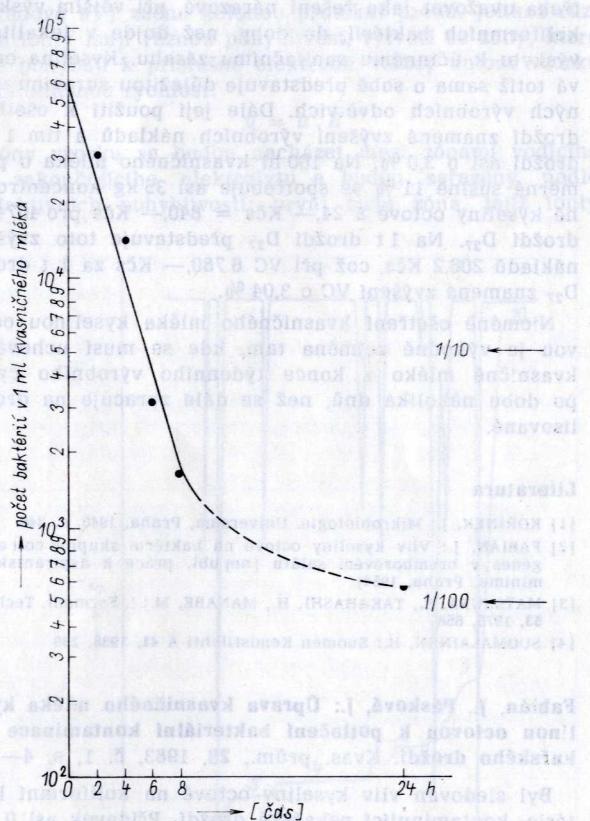
3. Pekařské a senzorické zkoušky s droždím ošetřeným kyselinou octovou

Droždí vyrobené z kvasničného mléka po ošetření kyselinou octovou má ve srovnání s kontrolním droždím zřetelně nakyslou chut. Filtrací se neodstraní všechna kyselina octová a část zůstane vázána v droždí [4].

Domníváme se, že zbytek kyseliny octové v liberkách má částečně konzervační účinek, takže její přítomnost by nebyla na závadu, pokud by se nepříznivě neprojevila zhoršenými senzorickými vlastnostmi pekařských výrobků. Tuto skutečnost jsme se snažili ověřit degustačními zkouškami připraveného pokusného pečiva. Droždí ošetřené kyselinou octovou a droždí kontrolní jsme použili k přípravě jednoduchého kynutého těsta, které jsme dále zpracovali jako domácí české buchty, plněné švestkovými povidly. Čerstvé buchty byly předloženy k senzorickému posouzení. Nikdo z posuzujících nenašel mezi oběma skupinami buchet chuťové rozdíly.



Obr. 1. Závislost pH kvasničného mléka na koncentraci kyseliny octové



Obr. 2. Vliv doby působení 0,4 % CH₃COOH na úbytek H₂S-baktérií v uměle kontaminovaném kvasničném mléce

V druhé sérii pokusného pečení (4 vzorky droždí) bylo z ošetřeného a neošetřeného droždí dvou provozních pokusů připraveno vánočkové těsto, které bylo zpracováno a upečeno na způsob bochánků. Toto pečivo

Tabulka 4. Přehled výsledků z provozních pokusů ošetření kvasničného mléka kyselinou octovou

| Číslo pokusu a datum | Ošetřený objem kvasničného mléka [hl] | pH kvasničného mléka | Spotřeba kyseliny octové [l] | Druh droždí | Doba působení CH ₃ COOH | Mohutnost kynutí lisovaného droždí [min] | Mikrobiální čistota lisovaného droždí po dnech | | | | |
|----------------------|---------------------------------------|----------------------|------------------------------|----------------|------------------------------------|--|--|------------|-------------------|-------------------------------|--|
| | | | | | | | 3 | | 7 | | |
| | | | | | | | po 3 dnech | po 7 dnech | cel. poč. bakt./g | z toho H ₂ S-bakt. | celk. z toho poč. H ₂ S bakt. bakt. |
| I. 14. 9. | — | 5,3 | — | K ₁ | — | 65 | 70 | 670 | 220 | 590 | 120 |
| | 3500 | 4,2 | 15,0 | O ₁ | 3 dny | 57 | 76 | 100 | 0 | 10 | 0 |
| II. 21. 9. | — | 5,8 | — | K ₂ | — | 103 | 111 | 1000 | 200 | 5850 | 225 |
| | 4000 | 3,9 | 17,2 | O ₂ | 3,5 h | 116 | 111 | 400 | 0 | 1325 | 0 |
| III. 28. 9. | — | 5,7 | — | K ₃ | — | 85 | 93 | 1675 | 750 | 1350 | 850 |
| | 3500 | 4,3 | 10,5 | O ₃ | 3 dny | 90 | 94 | 25 | 0 | 25 | 0 |
| VI. 18. 10. | — | 5,0 | — | K ₆ | — | 120 | 133 | 20 150 | 25 | 32 100 | 30 |
| | 10 000 | 4,05 | 32,0 | O ₆ | 1 h | 117 | 129 | 25 | 0 | 10 | 0 |
| VII. 7. 11. | — | 5,7 | — | K ₇ | — | 127 | 145 | 2115 | 110 | 2700 | 130 |
| | 9000 | 4,1 | 38,0 | O ₇ | 3 h | 134 | 165 | 20 | 0 | 10 | 0 |

K — kontrolní šarže bez přídavku CH₃COOH

O — ošetřeno kyselinou octovou

býlo rovněž předloženo k posouzení. Hodnocen byl vzhled, kyprost pečiva a jeho senzorické vlastnosti. Všechny vzorky těsta vykynuly stejně dobře. Dva z osmi posuzovatelů uvedli nepatrně nakyslicu chuf vzorků s ošetřeným droždím. Ostatní hodnotitelé tento rozdíl nezaznamenali.

Ošetření kvasničného mléka kyselinou octovou je však třeba uvažovat jako řešení nárazové, při větším výskytu koliformních baktérií, do doby, než dojde v lokalitách výskytu k účinnému sanitačnímu zásahu. Kyselina octová totiž sama o sobě představuje důležitou surovинu v jiných výrobních odvětvích. Dále její použití k ošetření droždí znamená zvýšení výrobních nákladů a tím i VC droždí asi o 3,0 %. Na 100 hl kvasničného mléka o průměrné sušině 11 % se spotřebuje asi 35 kg koncentrované kyseliny octové à 24,— Kčs = 840,— Kčs pro 4074 kg droždí D₂₇. Na 1 t droždí D₂₇ představuje toto zvýšení nákladů 206,2 Kčs, což při VC 6 780,— Kčs za 1 t droždí D₂₇ znamená zvýšení VC o 3,04 %.

Nicméně cestření kvasničného mléka kyselinou octovou je výhodné zejména tam, kde se musí uchovávat kvasničné mléko z konce týdenního výrobního cyklu po dobu několika dnů, než se dále zpracuje na droždí lisované.

Literatura

- [1] KOŘÍNEK, J.: Mikrobiologie. Universum, Praha, 1948, s. 346
- [2] FABIÁN, J.: Vliv kyseliny octové na baktérie skupiny coli aerogenes v bramborovém salátu (nepubl. práce k aspirantskému minimu, Praha, 1954)
- [3] MATSUURA, S., TAKAHASHI, H., MANABE, M.: J. Ferment. Technol. 53, 1975, 658
- [4] SUOMALAINEN, H.: Suomen Kemistilehti A 41, 1958, 239

Fabián, J., Pásková, J.: Úprava kvasničného mléka kyselinou octovou k potlačení bakteriální kontaminace pekařského droždí. Kvas. prům. 29, 1983, č. 1, s. 4—7.

Byl sledován vliv kyseliny octové na koliformní baktérie, kontaminující pekařské droždí. Přídavek asi 0,4 % kyseliny octové do kontaminovaného kvasničného mléka na optimální pH 3,9—4,1 neměl podstatný vliv na mohutnost kynutí a trvanlivost droždí ani po několikanádném působení. Ošetřením se však během krátké doby výrazně snížil počet kontaminujících baktérií a zcela vymizely ty, které na agaru s desoxycholanem sodným rostou v koloniích za současné tvorby sirovodíku (H₂S-baktérie) a mohou indikovat výskyt určitých podmíně-

ně patogenních mikrobů typu *Citrobacter sp.*, *Proteus morganii* apod. Jsou uvedeny výsledky s ošetřením pekařského droždí kyselinou octovou v provozním měřítku.

Фабиан, И., Паскова, Я.: Обработка дрожжевого молока уксусной кислотой в целях подавления бактериального заражения хлебопекарных дрожжей. Квас. прум., 29, 1983, № 1, стр. 4—7.

Исследовалось влияние уксусной кислоты на колиобразующие бактерии, заражающие хлебо-пекарные дрожжи. Добавка прибл. 0,4 % уксусной кислоты в контаминированное дрожжевое молоко до оптимального pH 3,9—4,1 не оказала существенного влияния на бродильную способность и устойчивость дрожжей даже в течение нескольких суток действия. После обработки однако в течение короткого времени выразительно понизилось количество контаминирующих бактерий, и совсем исчезли те бактерии, которые на агаре с дезоксиходатом натрия выращиваются в колониях с одновременным образованием сероводорода (H₂S-бактерии) и могут вызвать индикацию определенных условно патогенных микробов типа *Citrobacter sp.*, *Proteus morganii* и т.п. Приводятся результаты обработки хлебо-пекарных дрожжей уксусной кислотой в производственном масштабе.

Fabián, J. - Pásková, J.: Treatment of Yeast Suspension by Acetic Acid for a Suppression of Bacterial Contamination in Baker's yeast. Kvas. prům. 29, 1983, No. 1, p. 4—7.

The effect of acetic acid on coliform bacteria contaminating baker's yeast was studied. The addition of about 0,4 % of acetic acid into a contaminated yeast suspension resulted in the optimum pH of 3,9—4,1. The acetic acid addition did not substantially affect leavening power and keeping quality of baker's yeast not even after the exposure lasting several days. Using this procedure the number of contaminated bacteria was significantly decreased in a short time interval. The bacteria growing in colonies and producing hydrogen sulphide (H₂S-bacteria) on agar with sodium desoxycholate, which can indicate a presence of some facultative pathogens such as are *Citrobacter sp.*, *Proteus morganii* etc., were quite eliminated. The results obtained by this procedure in a plant scale are described.

Fabián, J. - Pásková, J.: Aufbereitung der Hefemilch durch Essigsäure zur Unterdrückung der bakteriellen Kontamination der Backhefe. Kvas. prům. 29, 1983, Nr. S. 4—7.

Es wurde der Einfluß der Essigsäure auf die coliformen Bakterien verfolgt, die die Backhefe kontaminierten. Die Zugabe von ungefähr 0,4 % Essigsäure in die kontaminierte Hefemilch auf das optimale pH 3,9 bis 4,1 hatte keinen wesentlichen Einfluß auf die Gärungsfähigkeit und Haltbarkeit der Backhefe auch nach mehr tägiger Einwirkung. Durch diese Behandlung wurde

jedoch während einer kurzen Zeit die Zahl der kontaminierenden Bakterien wesentlich herabgesetzt und es verschwanden vollkommen diejenigen, die auf Agar mit Natrium-Desoxycholat in Kolonien bei gleichzeitiger Bildung des Schwefelwasserstoffs wachsen (H_2S -Bakterien) und das Vorkommen bestimmter bedingt pathogener Mikrobe von dem Typ *Citrobacter Sp. Proteus morgani* u. ä. indizieren können. Es werden die Ergebnisse mit der Behandlung der Backhefe durch Essigsäure im Betriebsausmaß angeführt.