

A Cola-típusú üdítőitalok mikroflórája*

SZENTPÉTERY KATALIN

Érkezett: 1974. november 14.

* A MOTESZ Magyar Mikrobiológiai Társaságának 1974. évi Nagygyűlésén elhangzott előadás.

A Cola-típusú üdítőitalok csoportjába olyan italokat sorolunk, amelyeket megfelelően előkészített vízből, széndioxidból, szervesetlen savakból, aromaanyagokból és esetlegesen színezőanyagokból állítanak elő. Biológiai stabilitás tekintetében a kevésbé érzékeny italok közé tartoznak. Összetételükre jellemző, hogy nitrogénvegyületekben és növekedéshez szükséges tápanyagokban szegények, pH-juk 2,6 és 2,9 között mozog, a palackozott italban 0,4–0,7 s% CO₂ lehet. A fenti körülmények sok mikroorganizmus növekedésére gátló hatással vannak, tehát a Cola italoknál mikrobiológiai eredetű romlás nagyon ritkán lép fel.

Vizsgálatainkkal azt kívántuk megfigyelni, hogy az ital kezdeti csíraszám az eltartás során időben hogyan változik, illetve az adott kezdeti csíraszám az ital tartósságát hogyan befolyásolja. Így a mikroorganizmus-számot megállapítottuk a fejtés után, valamint egy hónap, illetve egy év eltelte után. A palackozott italt a vizsgálatok elvégzéséig 20–25 °C-on tároltuk.

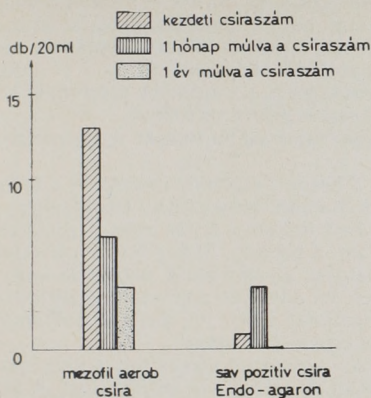
Megfigyeléseink kiterjedtek a mesophyll aerob élő csíraszám, az Endogaron nőtt mikroorganizmus-szám, valamint az élesztő- és penész-szám, illetve a tejsavbaktériumok számának megállapítására. A minták feldolgozása membránfilteres szűrési módszerrel történt, ahol 0,45 µm pórusátmérőjű cellulóz-nitrát filtert használtunk.

Az eredmények 10, különböző időpontban, más-más helyen előállított Cola italok mikroflórájának változását reprezentálják. Egy minta 9 palackozott italt foglalt magába, így a három vizsgálati időpontban 3–3 paralelrel dolgoztunk.

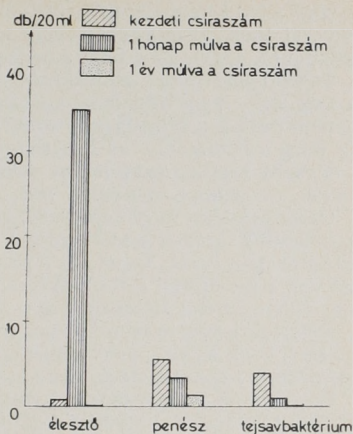
Fejtés után vizsgálva az ital mikrobiológiai állapotát megállapítottuk, hogy minden esetben a kész termék élő mikroflórával rendelkezett. A termék kezdeti csíraszámának mennyiségi és minőségi összetételétől függ a továbbiakban, hogy a romlás bekövetkezik-e és mikor következik be. *Molitoris* szerint Cola italban csak több, mint 200 000 baktérium/cm³ esetén lép fel látható zavarosodás, illetve élesztős fertőzöttségnél 100 000 db/cm³ a küszöbérték.

Az általunk vizsgált italokban a mesophyll aerob csíraszám fejtés után átlagban 13–14 db/20 cm³ volt (1. ábra). A kezdeti alacsony csíraszám az eltartás során csökkent, 1 év múlva átlagosan 3–4 db/20 cm³ baktériumot tudunk kitenyészteni. Az egy évre kitenyészített baktériumok telepeit mikroszkóposan megvizsgálva megállapítottuk, hogy morfológiailag majdnem mind *Clostridium* és *Bacillus* típusú spórás baktériumoknak tűntek.

A fejtés után, illetve a fejtés után 1 hónapra a marhahúskrémm-agaron végzett vizsgálat során több alkalommal kitenyésztek a *Micrococcus* és *Sarcina* nemzetség



1. ábra
A mezofil aerob csíraszám és az Endo-agaron kitenyészített sav pozitív baktériumszám változása Cola-italban



2. ábra
Az élesztő-, penész- és tejsavbaktérium-szám változása Cola-italban

baktériumai. Ezen baktériumok az egyéves vizsgálat során már nem voltak kitenyészthetők.

Az Endo-agaron végzett tenyésztések során tipusos *Escherichia coli*-t az italból nem tenyésztettünk ki, de sav pozitív, coliform baktériumok kitenyésztek. Ezek kezdeti száma alacsony volt (1. ábra). Az egy hónapra végzett vizsgálatoknál a Gram-negatív, glukózt és laktózt fermentáló pálcák száma átmenetileg megemelkedett, de az 1 éves eltartás után már nem tenyésztettek ki Colából. Laktózos bouillonban végzett erjesztési próba során ezen telepek részben sav- és gázképzést, részben csupán savképzést mutattak. Az IMViC sor, biokémiai teszt vizsgálata során indolképző baktériumok előfordulását nem tapasztaltuk.

Az üdítőitalra romlás szempontjából a legveszélyesebb mikroorganizmusok az élesztők, mivel néhány fajuk – a kedvezőtlen italösszetétel esetén is – szaporodni képes. Sand szerint az üdítőitalok mikrobiológiai romlását 90%-ban az élesztők okozzák. Ezen italkárosító élesztőfajok az üledékképzéssel, az ital zavarosításával és ritka esetben az erjedéssel az italt élvezhetetlenné teszik, megromtják.

Vizsgálatainkból megállapítható, hogy a kezdeti élesztőszám 1 hónap alatt jelentősen megemelkedett az italban, de nem érte el a zavarosodást okozó mértéket (2. ábra).

A Cola italok eltarthatóságával kapcsolatos vizsgálataink során 36 db mintát kísértünk figyelemmel, melyek közül egy mintánál 58 napra nagymértékű csomós üledékképződést figyeltünk meg, de zavarosodást nem tapasztaltunk. Mikroszkópos vizsgálattal megállapítottuk, hogy az élesztők nagymértékű elszaporodása, $10^3 - 10^4$ db/20 cm³ okozta a romlást. Ugyanezen mintánál az egy évre végzett vizsgálat során élesztőt már nem tudtunk kitenyészteni. Ebből arra következtettünk, hogy Cola italban ezen élesztő-fajok nem tartják meg életképességüket egy évig, csupán a palackozás után néhány hónapig életképesek.

Az italból kitenyészített penészek az oxigénhiány és a széndioxid-tartalmú környezet miatt szaporodásra nem képesek, de 1 év múlva is kitenyészíthetők a Colából (2. ábra). Ez a tény a penész-spórák nagy ellenállóképességére utal.

Tejsavbaktériumok előfordulását is tapasztaltuk Colában, de számuk igen alacsony volt, mely az 1 hónapos tárolás után tovább csökkent, és 1 év múlva már nem tudtuk a tejsavbaktériumot kitenyészíteni. (2. ábra.) A tejsavbaktériumok főleg a *Pediococcus* és *Leuconostoc* nemzetségekbe tartoztak.

Néhány esetben savtoleráns *Acetomonas* fajok előfordulását is tapasztaltuk Colában, de számuk elenyésző volt.

Összefoglalóan megállapítható, hogy a kezdeti alacsony csíraszám a mikroorganizmusok számára kedvezőtlen Cola italban átmenetileg emelkedhet, de romláshoz nem vezet. Tehát, ha a palackozott italban a fejtés után 50 db/20 cm³ alatt van a mesophyll aerob baktériumszám, a penész-, illetve tejsavbaktériumszám, akkor az ital eltarthatósága várhatólag az előírásnak megfelelő lesz.

Élesztők jelenléte esetén más a helyzet. Itt a kezdeti csíraszám 10 db/20 cm³ alatt kell, hogy legyen, mert átmeneti szaporodás állhat be, mely az italban üledékképződést, zavarosodást, ritka esetben erjedést okozhat.

Cola italból 9 élesztőtörzset izoláltunk, melyeknél vizsgáltuk a glükózkoncentráció toleranciát, valamint teszt-Colában az erjedést és szaporodást. A vizsgálatokat széndioxidmentes teszt-Cola italban végeztük, melynek pH-ja 2,8 volt, Brix°-a pedig 11,2. Megfigyeléseink során megállapítottuk, hogy a 9 élesztő törzs közül 4 képezett Colában gázt. Ezen gázképző élesztők a Cola-táplevest nem mindig zavarosították meg, hanem – ezen esetekben – üledéket képeztek.

Irodalmi utalások szerint erjedésből adódó romlás nagyon ritkán fordul elő. Sand 10 db romlott Cola közül csak egy esetben észlelt *Candida reukaufii* és *C. parapsilosis varietas intermedia* fajok által okozott erjedéses romlást, de ezen romlott Colákból nagy számban baktériumot is kitenyészített. Mossel és Scholts adatai szerint a Cola-típusú üdítőitalokból izolált élesztők inkább oxidatív, mint fermentatív típusúak.

Az általunk izolált élesztők ozmotoleranciáját 60%-os glükóz és 0,5%-os élesztőkivonat tartalmú táptalajon vizsgáltuk. A 25 °C-on inkubált lemezeket 4 nap múlva értékeltük. A Colát fermentáló törzsek mind ozmotoleránsak voltak. Az oxidatív típusú élesztőtörzsek között kettő jól növekedett a 60%-os glükóztartalmú táptalajon, három törzs pedig alig, ill. egyáltalán nem növekedett.

Teszt-Colában vizsgálva az izolált élesztők szaporodását megállapítottuk, hogy az ozmótoleráns élesztők közül az 1-es törzs nem szaporodott. Ezen élesztőtörzs a 60%-os glükózt és élesztőkivonatot tartalmazó táptalajon, – tehát optimális tápanyagfelvétel mellett – jól szaporodott. Cola-italban a szaporodóképpesség hiányát a nem optimális tápanyagfeltétellel magyarázzuk.

Több törzsnél elnyújtott növekedést tapasztaltunk, más esetben a szaporodást gyűrűképződés kísérte. A 60%-os glükóz-agaron alig növekedő élesztők szaporodása a teszt-Colában igen csekély mértékű volt. A vizsgált 9 törzs közül a colát erjesztő törzsek szaporodtak a legintenzívebben.

A palackozott italból izolált élesztőtörzsek vizsgált jellemzőit az 1. táblázatban foglaltuk össze. Taxonómiai meghatározást az izolált törzseknél eddig még nem csináltunk, de feltétlenül szükségesnek tartjuk ezen vizsgálatok elvégzését. A Cola-típusú italokat szelektív táptalajnak tekinthetjük – speciális összetételük miatt – a növekedési-anyagokra autotrófiás élesztők szempontjából. Az általunk izolált törzseknél is tapasztaltuk ezt a jelenséget, ugyanis a palackozott italban az élesztő megtartotta életképességét, de szaporodásra már nem volt képes, vagy csak igen kis mértékben. A teszt-Colában intenzívebb szaporodást mutató törzsek sem tudtak olyan mértékben felszaporodni a palackozott Colában, hogy annak zavarosodását okozták volna.

A vizsgált élesztőtörzsek jellemzői

Törzsszám	Szaporodás Cola-italban			Gázképzés Cola-italban	Növekedés 60%-os glükóz-agaron	Élesztő-pigmentáció
	zavarosodás	gyűrűképzés	üledék			
1	○	○	○	○	+++	
2	○	+	+	○	+	piros
3	○	○	++	+	+++	
4	○	+++	++	+	+++	
5	○	○	+	○	++	piros
6	+	+	○	○	++	
7	+	++	+	+	+++	
8	○	○	++	+	+++	
9	+	○	○	○	+++	

Magyarázat a táblázathoz:

○ - nincs jelenség
+++ - jól észlelhető a jelenség

Sand, Perigo, Schara, Seelinger és *Werner* kutatásai szerint Cola-italok romlását leggyakrabban a *Saccharomyces*, *Candida*, *Torulopsis*, *Pichia* és *Hansenula* fajok okozzák. A romlást okozó élesztők izolálási gyakoriságából kitűnik, hogy különösen a *Saccharomyces* fajok okozzák a legtöbb gondot.

A taxonómiai meghatározásnak különösen hazánkban és több európai országban van nagy értéke, ahol a Cola-fejítő üzemek több esetben sörgyárak mellett létesültek. A sörgyártáshoz felhasznált kultúrélesztőt több szerző, így *Sand*, *Mossel* és *Scholts* már izolálta Cola-italból. Ebből következik, hogy nem megfelelő üzemhygiéna esetén a sörélesztő könnyen szennyezheti a Cola-üzemet, de a Cola-üzemben esetleg más élesztőfaj okozta fertőzés is áterjedhet a sörgyárba.

A technológiai vonalban élesztőt felhasználó gyárak mellé telepített Cola-üzemben céltudatos üzemhygiéna intézkedésekkel az élesztős fertőzés elkerülhető.

Az eredmények 10, különböző időpontban, más-más helyen előállított cola-italok mikroflórájának változását reprezentálják.

Vizsgálati eredményeinkből kitűnik, hogy

1. frissen fejtett cola-italban a mesophyl aerob csirák és coliform baktériumok előfordulhatnak. A mesophyll aerob baktériumok életképességüket megőrzik a tárolás egy éve alatt, míg a coliform baktériumok kb. 1 hónap után elvesztik.
2. az élesztő számára az üdítőital kedvező környezet. Cola-italban nagymértékű szaporodásukat tapasztaltuk. Életképességüket az egy éves eltartás alatt elvesztették.
3. a fejtés során az italba került penészgombák szaporodásra nem képesek.
4. a tejsavbaktériumok kismértékben fordulnak elő, életképességüket hamar elvesztik.

- (1) *Borszéki B., Soóki-Tóth Á., Török T.*: Az üdítőitalgyártás mikrobiológiai és higiéniai kérdései MÉTE, 1974.
 (2) *Molitoris K.*: Brauwelt 113, (56) 1199, 1973.
 (3) *Sand F.E.M.J., Kolfshoten G. A.*: Brauwissenschaft 22, (4), 129, 1969.
 (4) *Sand F.E.M.J.*: Brauwelt 113, (17), 320, 1973.
 (5) *Sand F.E.M.J.*: Brauwelt 113, (21), 414, 1973.

МИКРОФЛОРА ОСВЕЖАЮЩИХ НАПИТКОВ ТИПА КОЛА

К. Сентпетери

В освежающих напитках типа кола в результате специального его состава очень редко возникает микробиологическая порча. В исследовательских работах автор наблюдал, что в течении хранения в напитках каким образом изменяется во времени начальное количество микроб и каким образом влияет начальное число зародышей на хранимость напитка.

Результаты показывают изменение микрофлоры освежающих напитков типа кола полученных на разных местах в 10-ти разных сроках. Из результатов испытаний видно, что

1. в свежем разливе напитков кола могут содержаться мезофильные аэробные микробы и колиформные бактерии. Мезофильные бактерии в течении одно годичного хранения сохраняют свою жизнестойкость, а бактерии колиформ теряют жизнеспособность приблизительно после одного месяца хранения;
2. освежающий напиток является хорошей средой для дрожжей. В освежающем напитке типа кола наблюдал сильное их размножение. Жизнестойкость этих дрожжей теряли в течении одногодичного хранения;
3. плесневые грибы попавшие в освежающий напиток кола во время разлива не способны размножаться;
4. наличие молочно-кислых бактерий не значительное и быстро теряют жизнеспособность.

MIKROFLORA VON ERFRISCHENDEN GETRÄNKEN VOM COLA-TYP

К. Szentpétery

Bei den erfrischenden Getränken vom Cola-Typ kommt ein Verderben mikrobiologischen Ursprungs infolge ihrer speziellen Zusammensetzung nur äusserst selten vor. Zweck der Untersuchungen war die Beobachtung der Änderungen der anfänglichen Keimzahl der Getränke während ihrer Lagerung in Abhängigkeit von der Zeit bzw. des Einflusses einer gegebenen anfänglichen Keimzahl auf die Lagerfähigkeit der Getränke. Die Ergebnisse bestätigen die Änderungen der Mikroflora von zehn bei verschiedenen Zeitpunkten in verschiedenen Betrieben hergestellten Colagetränken. Von den Untersuchungsergebnissen geht hervor, dass (1) mesophile aerobe Keime und Coliform-Bakterien in frisch abgezogenen Colagetränken anwesend sein können, (die mesophylen aeroben Bakterien behielten ihre Lebensfähigkeit während einer einjährigen Lagerung, aber die Coliform-Bakterien verloren sie nach ungefähr einem Monat.); (2) das er-

frischende Getränk für die Hefe eine günstige Umgebung darstellt, indem im Cola-Getränk eine bedeutende Hefevermehrung beobachtet wurde, jedoch die Hefen ihre Lebensfähigkeit nach einer einjährigen Lagerung verloren; (3) die während des Abziehens ins Getränk eingeführten Schimmelpilze zur Vermehrung unfähig waren; und (4) Milchsäurebakterien nur in geringer Menge vorkommen und ihre Lebensfähigkeit schnell verloren.

MICROFLORA OF SOFT DRINKS OF COLA TYPE

K. Szentpétery

Owing to the special formulation, the decay of microbiological origin occurs very rarely in soft drinks of Cola type. The object of the investigations was to observe the changes in time of the initial germ count of the soft drink during its storage and to examine the effect of a given initial germ count on the keeping quality of the drink. The results represent the changes in the microflora of ten Cola drinks produced at various times in various plants. The results of investigations pointed out that (1) in Cola drinks drawn off freshly, mesophylic aerobic germs and coliform bacteria may occur (mesophylic aerobic bacteria preserved their viability during one year of storage whereas coliform bacteria have lost their viability after about one month of storage); (2) soft drinks of Cola type proved to be favourable nutrients for yeasts in that in Cola drinks the yeasts multiplied to a great extent (they have lost however their viability after one year of storage); (3) moulds introduced in the drinks during drawing off were unable to multiply; and (4) lactic acid bacteria occurred only in small amounts and they have lost their viability in a short time.

LA MICROFLORE DES BOISSONS RAFRAÎCHISSANTES DU TYPE COLA

K. Szentpétery

Grâce à leur composition spéciale, une détérioration microbienne ne se produit que très rarement dans les boissons rafraîchissantes du type Cola. L'objectif de l'étude était d'observer, lors de l'entreposage, les variations de la teneur initiale en germes et d'établir l'influence que peut avoir une teneur initiale en germes donnée sur la conservabilité de ces boissons.

Les résultats rendent compte sur les variations de la microflore de 10 boissons de Cola, fabriquées en temps et en lieux divers.

Les résultats principaux sont les suivants:

1. Dans les boissons Cola récemment embouteillées on peut trouver des germes mésophiles aérobies et des bactéries coliformes. Les premiers organismes conservent leur viabilité pendant un an, tandis que les derniers la perdent en un mois.

2. La boisson rafraîchissante représente un milieu favorable pour les levures. On a observé leur forte croissance dans les boissons. Cola. Elles perdent leur viabilité au cours de l'entreposage d'un an.

3. Les moisissures qui parviennent dans la boisson lors de l'embouteillage ne sont pas capables d'y croître.

4. La présence des bactéries lactiques est rare, leur viabilité se perd rapidement.