

## Termofil spórák hatása szacharóz-oldatokra\*

V A J D A Ö D Ö N

Budapest Főváros Vegyészeti és Élelmiszervizsgáló Intézete

Eddigi közleményeinkben (1), (2), (3) beszámoltunk a hazai és külföldi cukrok termofil spórás szennyezettségének eredetéről, és kritikai vizsgálat tárgyává tettük ennek mértékét, továbbá javaslatokat tettünk a cukorgyártás folyamán káros tevékenységet kifejtő mikroorganizmusok számának csökkentésére, illetve a nem patogén mikrobiológiai szennyezettség megszüntetésére és így részben a cukorveszteségek, részben a termelt cukor mikrobiológiai szennyezettségének csökkentésére. Tekintettel arra, hogy a cukor jelentős részét nem közvetlenül fogyasztják el, hanem egyéb élelmiszerek előállításához használják, célzerű volt annak megvizsgálása is, hogy a cukron megtalálható termofil spórák kivelve milyen cukorbontó tevékenységet fejthetnek ki. Figyelembe kell venni, hogy Magyarországon a lakosság közvetlenül mintegy 51%-át fogyasztja el a termelt cukornak és kb. 16%-át az élelmiszeripar használja fel.

A cukron található termofil spórák cukorbontó tevékenységének, e bontási tevékenység mechanizmusának, illetve a keletkezett termékeknek a vizsgálatára kísérletorozatot végeztünk.

### Vizsgálati módszer

Ismert spóraszámú (150 – 300 db/10 g) cukorból aseptikus módon különböző cukor-koncentrációjú oldatokat készítettünk: 0,5 – 1%-os, illetve, 8,0 – 18,0 %-os koncentrációban. Azért választottuk ezeket a töménységeket, mert egyrészt a konzervgyártáshoz ilyen koncentrációjú cukoroldatokat használnak (főzelékfélék, egyes savanyúságok, befőttek készítéséhez), másrészt ezek a koncentrációk bizonyultak az irodalmi adatok és a saját tapasztalataink szerint a cukorbontó termofil spórás mikroorganizmusok szaporodásához és tevékenységéhez legkedvezőbbnek.

A cukoroldatokat – figyelemmel arra, hogy termofil spórák szerepét vizsgáltuk – 5 percig tápanyaggal együtt forraltuk. A használt tápanyag összetétele azonos volt a cukorgyári és cukor-mikrobiológiai vizsgálatokhoz használt és összehasonlító mérések alapján legjobbnak bizonyult tápanyagával, csupán azzal a különbséggel, hogy szilárdító ágár-ágárt – a vizsgálat természetéből folyóan – nem használtunk. A táptalaj összetétele:

100 g élesztő	} pH = 7,0
20 g szacharóz	
5 g pepton	
1000 ml víz	

A 100 ml-es oldathoz 10 ml folyékony táptalajt adtunk. Az ú. n. vakpróba tápanyag hozzáadása nélkül készült.

Az előbbieken leírt oldatokat 56 C°-on termosztáltuk 60, 116, 260, 332, és 452 óra hosszat. Egy-egy időszak letelte után vizsgáltuk meg a különböző koncentrációjú termosztált cukoroldatokat. Az időszakaszokat úgy választottuk

\* Fejezet a szerző „A cukor termofil spórás szennyezettsége és ennek hatása néhány élelmiszerre” c. kandidátusi disszertációjából (véde 1964. december 3. MTA).

meg, hogy azok részben a generációs idővel, részben a tartósított, hőkezelt készítmények termosztát-próba idejével összhangban legyenek.

A termosztálási szakaszok befejeztével az egyes oldatokban a következő vizsgálatokat végeztük el.

**Polárcukor**, tehát az optikai jobbrafordító – jelen esetben szaharóz – cukor mennyiségének polariméteres meghatározása az oldatban. A meghatározást a cukoriparban alkalmazott egységes vizsgálati módszerek szerint végeztük el. Az eredményt g/100 ml-ben adtuk meg.

**Közvetlen redukáló cukor** mennyiségének meghatározása Schoorl- és Regenbogen módszerrel. Az eredményt g/100 ml-ben fejeztük ki.

**Összes cukortartalom** meghatározása. Az oldatban levő szaharóz 0,5 n HCl-val 30 percig történő invertálása után redukáló cukor formájában határoztuk meg az összes cukrot Schoorl – Regenbogen módszerrel, g/100 ml-ben.

**Összes savtartalom** meghatározása 0,01 n NaOH-dal fenoltalein indikátorral milliekvivalensben kifejezve.

**Illósavtartalom** meghatározása vízgőzdesztillációval és a desztillátumot 0,01 n NaOH-dal titrálva az egységes konzervipari vizsgálati módszerkönyv szerint, milliekvivalensben kifejezve.

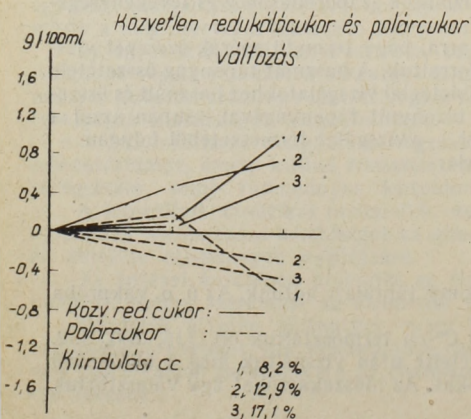
**pH** meghatározása üvegelektóddal.

**Viszkozitás** mérése Oswald viszkoziméterrel a relatív viszkozitást  $\eta$  rel-ban kifejezve.

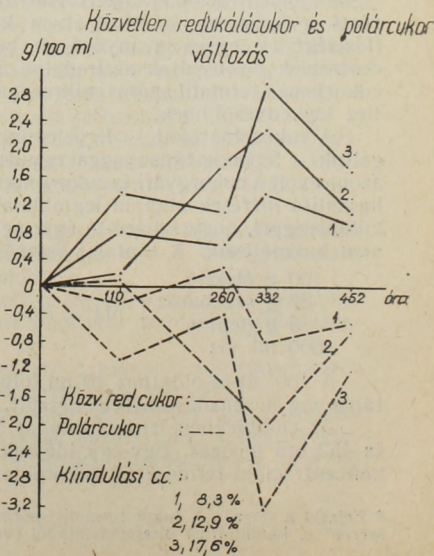
Hat vizsgálati sorozatot végeztünk el, két-két párhuzamos mintával, amelyek közül az elsőt – minthogy csak előkísérlet volt – nem ismertetjük. A sorozatok II., III., IV., V., és VI. jelzést kaptak.

### A vizsgálatok eredménye

A vizsgálati eredmények közül elsősorban a cukor mennyiségének változását ismertetjük az 1/II., 1/III., 1/IV., 1/V., és 1/VI. ábrán. Az ordinátán 0-ponttól felfelé a közvetlenül redukáló cukor mennyiségében bekövetkezett növekedést



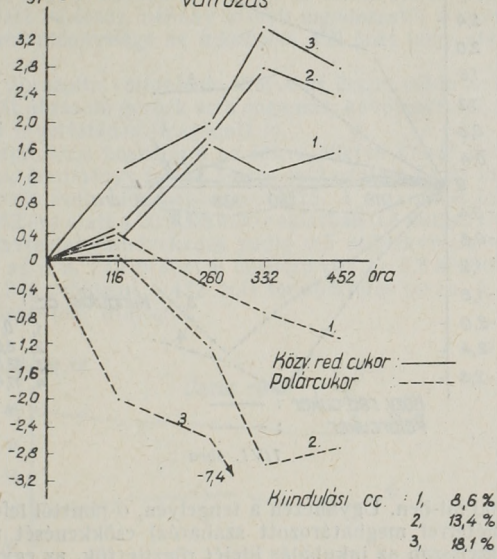
1/II. ábra



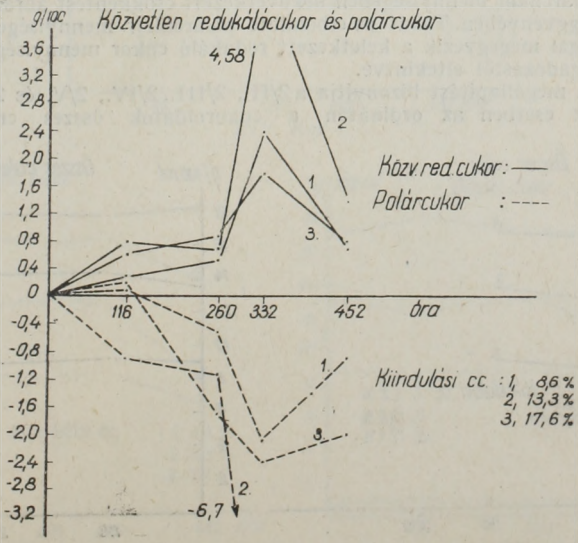
1/III. ábra



Közvetlen redukálócukor és polárcukor  
g/100 ml változás

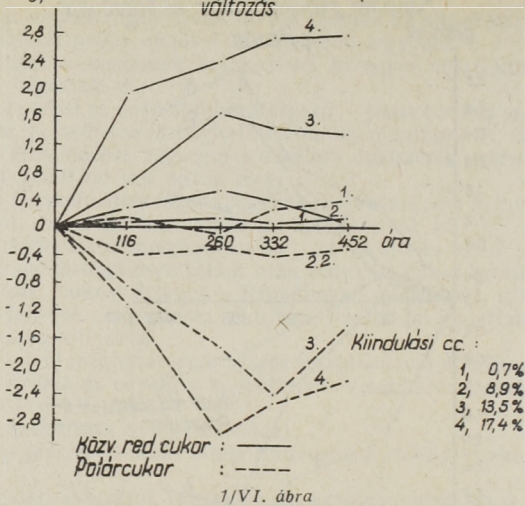


1/IV. ábra



1/V. ábra

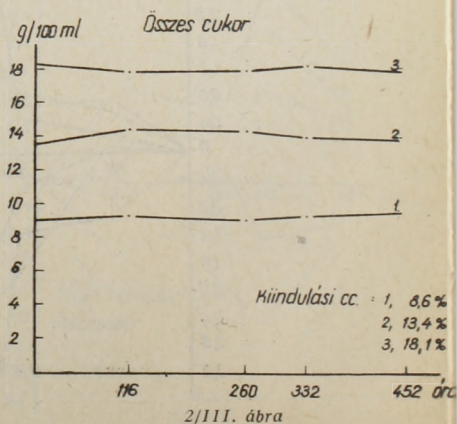
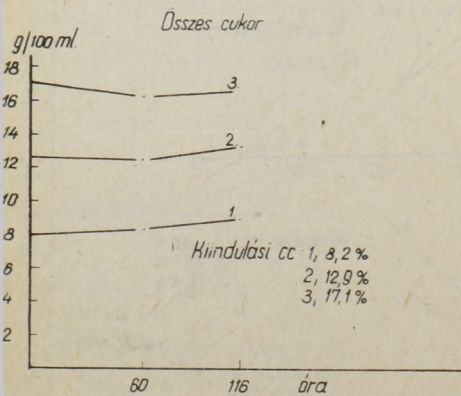
g/100 ml Közvetlen redukálócukor és polárcukor változás



mértük fel g/100 ml-ben. Ugyanezen a tengelyen, 0-ponttól lefelé pedig a polárcukor (polariméterrel meghatározott szaharóz) csökkenését ugyancsak g/100 ml-ben. Az abszcisszán az inkubálás idejét rögzítettük, az egyes pontok a vizsgálati időpontokat tüntetik fel: 116, 260, 332 és 452 órát.

Jól látható, hogy a közvetlenül redukáló cukor növekedésének görbéje tükörképe a polárcukor mennyiségében bekövetkező csökkenést ábrázoló görbének az idő függvényében. Tehát az elbomlott polárcukor mennyisége megközelítő pontossággal megegyezik a keletkezett redukáló cukor mennyiségével, néhány kisebb ingadozástól eltekintve.

Ezt a megállapítást bizonyítja a 2/II., 2/III., 2/IV., 2/V. és 2/VI. ábra is. Ebben az esetben az ordinátán a cukoroldatok összes cukortartalmát



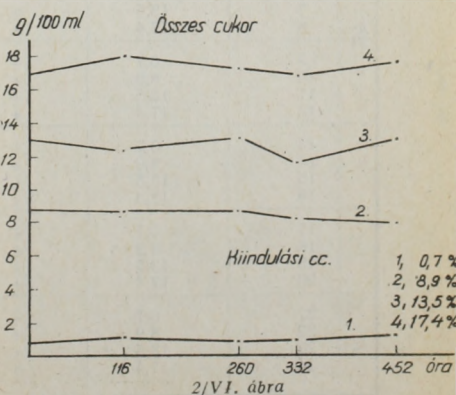
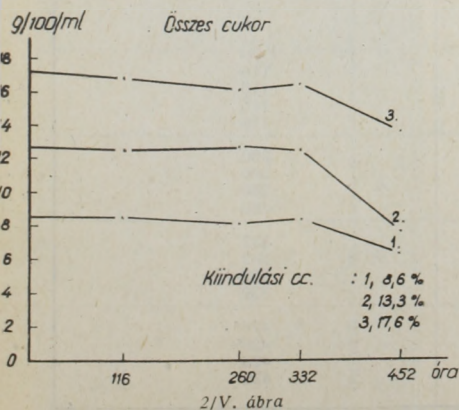
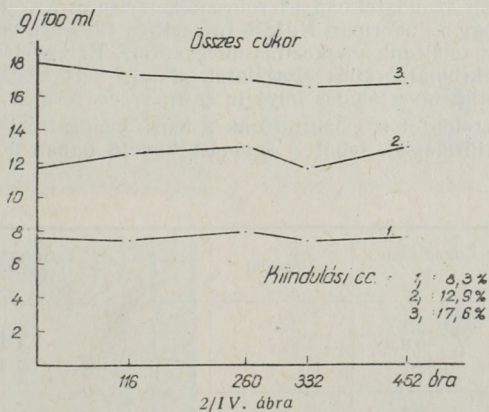


Schoorl – Regenbogen módszerrel meghatározva mértük fel, az abszcisszán pedig ismét az inkubálás idejét. Szembetűnő, hogy az összes cukor mennyiségében az inkubálás ideje alatt változás, néhány kisebb ingadozástól eltekintve, nem állt be. Az összes cukor mennyisége az inkubálás 452 óráig ideje alatt változatlan maradt.

A grafikonok ábrázolta változások, illetve az összes cukortartalom úgyszólván konstans voltát ábrázoló görbék arra engednek következtetni, hogy az oldatban 452 óra alatt invertálódás játszódott le.

Fenti megállapításhoz hozzájárul az összes, illetve illósav meghatározására végzett vizsgálatok eredménye is. Az összes savtartalom és az illósav-tartalom növekedése minimális volt, alig meghatározható. A maximális összes savtartalom emelkedése a 452 óra alatt a 20%-os cukoroldatban 0,6 milliekvivalens/100 ml, a maximális illósavtartalom-növekedés pedig 0,5 milliekvivalens/100 ml volt.

A pH értékek az ú. n. vak-próbával ellenőrizve 7,0 – 6,8 között voltak. a pH érték általában 5,2-ig csökkent a 452 órás termosztálás során. A keletkező sav mennyiségére fentebb már utaltunk.



Az előbbi megállapításokhoz alátámasztásul szolgálnak a *papírkromatográfiás* vizsgálatok eredményei is. *Schleicher – Schüll* 2043/B papíron butanol-jég-ecet-víz-4 : 5 : 1 arányú keverékével végzett futtatás és anilinfaltolás előhívással végzett papírkromatográfiás vizsgálatok szerint a keletkezett bomlási termékek főként glükóz és fruktóz, tehát a szacharóz inverziós termékei.

A 3/a, 3/b, 3/c, 3/d ábrákon bemutatott papírkromatogramokon jól látható a fruktóz és a glükóz foltja és az egyes sorozatok eredményei egymással jól egyeznek. Az értékelést UV-fényben is elvégeztük, így a szabad szemmel, nappali fényben nem kielégítően érzékelhető foltok helyét is be lehetett a kromatogramon jelölni. (Az 1. táblázat a kromatogramok értékeléséhez szükséges magyarázatot foglalja magában).

Jól látható, hogy az ú. n. vakpróbában (0-órás inkubálás, táptalaj hozzáadása nélkül) glükóz és fruktóz nincs. Forralás után a töményebb oldatokban inverziós terméket UV-fényben már észlelni lehetett. Ez termikus cukorbomlásra mutat. A hőntartás (56 C°) előrehaladtával különösen a töményebb cukoroldatokban jól látható glükóz és fruktóz foltokat kaptunk a kromatogramon.

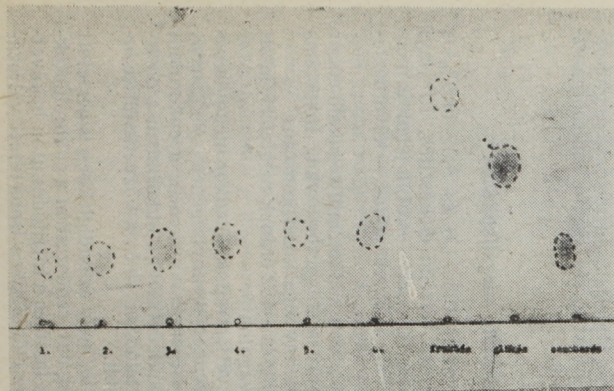
A viszkozitás az oldatokban a termosztálás során nem változott. (Szeretnők megjegyezni, hogy a Cukoripari Kutató Intézetben 1959-ben végzett ilyen kísérletek során sem találtunk viszkozitás növekedést). Ez egyébként megerősíti a kémiai és papírkromatográfiás vizsgálatok alapján tett megállapítást, hogy a termosztálás során invertálódás folyt le és reverziós termék nem keletkezett.

Steril cukoroldatot is előállítottunk a fenti koncentrációkban, még pedig frakcionált sterilizálással, tehát 3 egymást követő napon keresztül, naponta

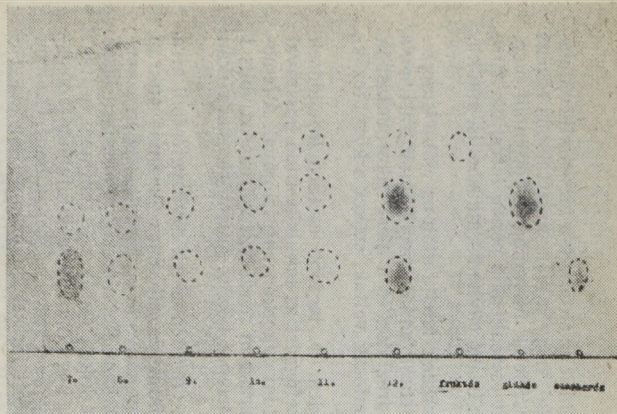
1. táblázat

Sorszám	Cukor konc. %	Táptalaj	Termosztálási idő/óra
1	0,7	-	∅
2	0,8	-	∅
3	12,9	-	∅
4	17,1	-	∅
			} „vakpróba”
5	0,7	+	∅
6	8,9	+	∅
7	13,5	+	∅
8	17,4	+	∅
9	0,7	+	116
10	8,9	+	116
11	13,5	+	116
12	17,4	+	116
13	0,7	+	260
14	8,9	+	260
15	13,5	+	260
16	17,4	+	260
17	0,7	+	332
18	8,9	+	332
19	13,5	+	332
20	17,4	+	332
21	0,7	+	428
22	8,9	+	428
23	13,5	+	428
24	17,4	+	428

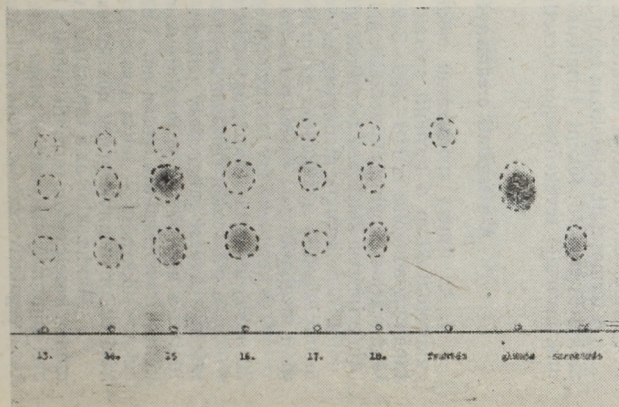




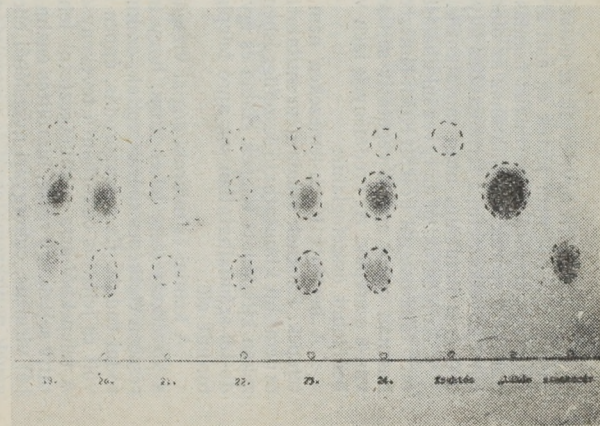
3a ábra



3b ábra



3c ábra



3d ábra



$\frac{1}{2}$  óráig 100 C°-ra hevítettük az oldatot. Ennek az oldatnak a vizsgálati eredményei a többitől nem tértek el, ami arra utal, hogy a mért invertálódás főként termikus eredetű. A termikus bomlás a kísérletek folyamán akkor indul meg, amikor a spórák vizsgálatához az oldatokat esetenként 5 percig forraljuk. Erre lehet következtetni a termosztálás folyamán beálló enyhe barnulásból is, ami kb. 200 órás inkubálás után mutatkozik.

Az oldatokból az egyes inkubálási szakaszok letelte után az előbb ismertett tápanyaggal készült Koch-lemezre oltottunk annak megállapítására, hogy a használt cukor spórái vegetatív sejtekké csíráztak-e és a mért cukorbontásban van-e szerepük. Az eredmények igen változatosak voltak, ezeket a következőkben lehet összefoglalni:

A beoltott Koch-lemezeken nem minden, de legtöbb esetben kifejlődtek telepek. Ezeknek száma nem mutatott összefüggést az inkubálási idő hosszával és nem volt kimutatható összefüggésben az oldat cukorkoncentrációjával. A lemezeken kifejlődött telepek száma és így a csíraszám rendkívül változatos volt, 1 db-tól számlálhatatlan sok apró telepig. A telepek között savanyító csak ritkán fordult elő.

A kémiai és mikrobiológiai vizsgálatok eredményeinek egybevetéséből arra a következtetésre lehet jutni, hogy az oldatok készítéséhez használt cukor részben életképes spórák voltak, ezeknek egy hányada ebben a közegben szaporodni tudott. Ez a szaporodás, éppen a csökkent életképesség miatt, igen lassú volt és jelentős cukorbontó tevékenységet a kikelt csírák kifejtene nem tudtak. A telepekből arra is következtetni lehetett, hogy a spórákból kifejlődött vegetatív sejtek egy része, hidrolitos enzim hiányában, szacharózt nem bont. (Lorenz [4] virulens, cukorgyári nyersléből elkülönített törzsek cukorbontó tevékenységének papírkromatográfiás vizsgálatánál már 16–48 óra alatt jelentős mértékben keletkezett tejsavat határozott meg.)

A termosztált oldatokban tehát a szacharóz átalakulása fruktózzá és glükózzá kettős eredetű: főként termikus okra, másrészt kevés számú mikroorganizmus invertáló tevékenységére vezethető vissza.

### A vizsgálati eredményekből levonható megállapítások

1. Az ismert spóraszámú cukorral készített 0,5–1,0 és 8,0–18,0%-os cukoroldatokban a termofil spórák vizsgálatára történő előkészítés, 10%-nyi tápanyag-adagolás és 116–260–332 és 452 órás termosztálás után jelentős mértékű szacharóz bomlás következik be. A hidrolízis – invertálódás – következtében priméren keletkező termékek glükóz és fruktóz.

2. A polárcukor mennyiségének csökkenése és a közvetlenül redukáló cukor mennyiségének növekedése egymással szoros összefüggésben van. Invertálás után meghatározott összes redukáló cukor mennyisége közel konstans.

3. A keletkező sav mennyisége igen csekély és a 452 órának megfelelő, közel 20 napos időtartam alatt, úgyszólván elhanyagolható.

4. A polárcukor csökkenése, illetve a közvetlen redukáló cukor mennyiségének növekedése progresszív jellegű. A polárcukor mennyiségének csökkenése, illetve a közvetlenül redukáló cukor mennyiségének növekedése a cukoroldat koncentrációjával arányosan nő. A nagyobb koncentrációjú oldatokban a polárcukor csökkenése – tehát a szacharóz invertálódása – és a közvetlenül redukáló cukor mennyiségének növekedése nagyobb.

5. Mindezekből az a tapasztalat vonható le, hogy az eddigiekben ismertett módon kezelt cukor termofil spórái a leírt vizsgálati rendszerben a cukoroldatokban minimális változást okoznak, kifejlődésük lassú és a kifejlődés után bekövetkező vegetatív szakasz rendkívül inaktív. Az előbbieken ismertett változá-



sok kémiai folyamatot jellemeznek és nem mikrobiológiáit. Az igen csekély eltérés a semleges pH-tól és a forralás elegendő ahhoz, hogy az invertálódás lejátszódjék.

A kisszámban kifejlődő termofil mikroorganizmusok cukorbontó tevékenysége, annak csekély volta mellett, nem tagadható, azonban a fentiekben vázolt cukorbontás folyamatát nem jellemzi. Az egészen csekély mennyiségben keletkezett tejsav ennek a tevékenységnek tudható be.

A termikus bomlás indokoltságát alátámasztják *Vukov* (5) vizsgálatai. Szerinte tiszta cukoroldatokban a hőmérséklet és pH következtében beálló inverzió nagysága a következő matematikai formában fejezhető ki:

$$\lg k = 16,91 + \lg (d - c) - \frac{5670}{T} - \text{pH},$$

ahol:

$k$  = a szacharóz hidrolízis sebesség-állandója  $\text{g/g} \cdot \text{min}^{-1}$

$d$  = oldat fajssúlya

$c$  = oldat koncentrációja

$T$  = abszolút hőmérséklet

Híg oldatokra nézve  $(d - c)$  értéke gyakorlatilag 1-nek vehető, s az alkalmazott kísérleti körülmények között mért adatok nagyságrendben megfelelnek a képlet alapján kiszámított értékeknek.

#### I R O D A L O M

- (1) *Vajda Ö.*: Cukoripar, 14, 307, 1961.
- (2) *Vajda Ö.*: Élelmezési Ipar 17, 10, 1963.
- (3) *Vajda Ö.*: Cukoripar 16, 10, 1963.
- (4) *Lorenz S.*: Zucker 12, 478, 1959.
- (5) *Vukov K.*: Cukoripari Kutató Intézet Közleményei VIII. kötet, 1963. január – december, 34. old.

### ВЛИЯНИЕ ТЕРМОФИЛЬНЫХ СПОР НА САХАРОЗЫ

Э. Вайда

Автор изготовил 0,5–1,0; 8,0–18,0%-ные растворы сахарозы из сахара известного содержания спор. Растворы после добавления жидкой питательной среды термостатировал при 56° в течении 60, 116, 260, 332 и 452 часов. Продукты распада исследовал методами бумажной хроматографии, поляриметрии, определения pH и содержания кислот. Установил, что в растворах вследствие инверсии образовались глюкоза и фруктоза. Реверсия не происходила, образовалось незначительное количество кислот. Контрольные исследования и определения числа зародышей показали, что термический распад и гидролиз происходили вследствие кипячения и термостатирования при 56° и только в исключительных случаях вследствие деятельности бактерий. Чрезвычайно небольшое количество спор не прорастали даже в течении максимального времени термостатирования, они не разрушали сахар, не образовали кислоту.

# ÜBER DEN EINFLUSS THERMOPHILER SPOREN AUF SACCHAROSE-LÖSUNGEN

Ö. Vajda

Verfasser inkubierte 0,5–1,0%-ige und 8,0–18,0%-ige Zuckerlösungen, welche aus Zucker mit bekannter Sporenzahl bereitet wurden und Nährlösung enthielten bei 56°C, 60, 116, 260, 332 und 452 Stunden lang und untersuchte die Zersetzungsprodukte. Er arbeitete mit papierchromatographischer und polarimetrischer Methode, bestimmte auch pH und Säuregehalt. Es wurde festgestellt, dass sich in den Lösungen infolge der Inversion Glykose und Fructose bildeten, eine Reversion spielte sich nicht ab. Die Menge der gebildeten Säure war äusserst gering. Die Kontroll- und Keimzahlbestimmungen wiesen darauf hin dass die thermische Zersetzung und Hydrolyse infolge des Kochens der Lösungen und der Inkubation bei 56°C eintritt und nur in einzelnen Fällen infolge von Bakterientätigkeit. Der sehr geringen Anzahl der Keime und deren verminderter Lebensfähigkeit zufolge konnte die Keimung selbst während der maximalen Inkubationszeitdauer nicht stattfinden, es erfolgte kein Übergang in die vegetative Form, keine Zuckerzersetzung und Säurebildung.

## EFFECT OF THERMOPHILIC SPORES ON SUCROSE SOLUTIONS

Ö. Vajda

Sucrose solutions of the concentration ranges 0,5 to 1,0% and 8,0 to 18,0% prepared from sugar of known spore number were incubated with a liquid nutrient 60, 116, 260, 332 and 452 hours at 56°C, and the decomposition products were investigated. These tests included paper chromatographic and polarimetric investigations, and determinations of pH value and acid content. The formation of glucose and fructose in the solutions due to inversion was proved. No reversion took place. The amount of acid formed was very small. Control tests and germ number tests proved that thermal decomposition and hydrolysis take place on the effect of boiling and incubation at 56°C, and that the decomposition can be ascribed to bacterial activity only in a few cases. The very germs of decreased viability present in a very small number were incapable, even in a prolonged incubation period, of germination, development and conversion into vegetative form, of decomposing sugar and of forming acids, either.

## L'EFFET DES SPORES THERMOPHYLES SUR LES SOLUTIONS DE SACCHAROSE

Ö. Vajda

L'auteur a préparé des solutions à 0,5–1,0% et 8,0–18,0% avec du sucre contenant un nombre connu de spores qu' il a incubées avec des solutions nutritives à 56 C° pendant 60, 116, 260, 332 et 452 heures. Ensuite il en a étudié les produits de décomposition par la chromatographie sur papier et au polarimètre, il en a aussi dosé le pH et la teneur en acides. Il a établi qu' il s'est formé dans les solutions du glucose et du fructose par inversion. Il n'y a pas eu de reversion. La quantité de l'acide formé a été très petite. Les essais de contrôle et le comptage des spores ont démontré que la décomposition et l'hydrolyse thermique ont été le résultat de l'ébullition et de l'incubation à 56°C et seulement dans quelques cas de l'oeuvre des bactéries. Les spores de vitalité restreinte présentes en très petit nombre n'ont pas pu germer se développer et passer sous la forme végétative, décomposer le sucre et former de l'acide même pendant la période d'incubation maxima.