

## Vliv použití desinfekčních prostředků na růst bakterií v prostředí extraktoru

EFFECT OF DISINFECTANTS USE ON BACTERIAL GROWTH IN EXTRACTOR ENVIRONMENT

Radek Horák – Moravskoslezské cukrovary, s. r. o, Hrušovany nad Jevišovkou

V Evropě se vyprodukuje přibližně 17,6 mil. t sacharosy ročně z cukrové řepy jako hlavního zdroje (1). Na základě podnebí a zemědělské produkce se řepa sklízí mezi zářím a listopadem, kdy obvykle startuje proces jejího zpracování, který končí v únoru. Sklizeň řepy v polovině listopadu již často komplikují nepříznivé meteorologické podmínky, v předstihu sklizená řepa je pak obvykle uložena na polních skládkách v okolí továrny, než dojde k jejímu dalšímu zpracování.

Proces vlastní výroby v cukrovaru začíná dodávkou řepy z polí či skládek a jejím následným praním a řezáním. V extrakčním procesu pak dochází k extrakci sacharosy z nařezaných řepných řízků v horké vodě, cukrová řepa obsahuje 14–20 % sacharosy (2). Řepné řízky jsou v protiproudém extraktoru zahřívány na 65–75 °C za použití tzv. cirkulační šťávy. Extrakce sacharosy je řízena koncentračním gradientem mezi řepnými řízků a okolní vodou. Tato tepelná macerace při teplotách v rozmezí od 30–75 °C vede ke zvýšené propustnosti buněčných membrán, takže sacharosa může být extrahována kvantitativněji. Obvykle se voda použitá pro extrakci regeneruje ve změkčovací stanici (tzv. tlaková voda o pH 4,5) stejně jako řízkolisová voda s nižší hodnotou pH. Surová šťáva má přibližně hodnotu pH 6,0, obsahuje cca 16 % sušiny, sacharosu, ale také sacharové necukry, jako je glukosa, fruktosa, rafinosa, a další necukerné látky. V surové šťávě se např. vyskytují různé typy kyselin a dalších složek řepy. Při čištění je surová šťáva zpracována uhličitánem vápenatým. V tomto kroku dosahují teploty až 95 °C a pH >12. Výsledná lehká šťáva má hodnotu pH přibližně 9,0, sušinu cca 16 % a odpařuje se za současného vzniku tzv. těžké šťávy, která

obsahuje cca 68 % sušiny a její pH je okolo 8,6 (3–10). Následně dochází ke krystalizaci, získávání bílého cukru. Melasa, vedlejší produkt výrobního procesu cukru, se používá jako krmivo pro zvířata anebo jako substrát v různých fermentačních aplikacích.

Díky dostupnosti kyslíku, teplotě a podmínkám pH během výroby cukru se mikroorganismy vyskytují zejména v kroku extrakce, ale mohou se také šířit dalšími procesními kroky, jako je např. čištění šťávy. Mikroorganismy obvykle vstupují do výroby různým způsobem, např. půdou ulpělou na řepě, vzduchem či cirkulující vodou. Vzhledem k těmto podmínkám jsou mikroorganismy (bakterie, kvasinky a plísňe) buď aerobní anebo anaerobní, mezofilní nebo termofilní, na kvalitu mají rozdílný vliv. Jejich činností dochází ke vzniku polysacharidů jako dextran, který ucpává filtr, také kombinace produkovaného plynu a pěny negativně ovlivňuje přenos tepla v zařízení. Sekundární efekt růstu mikroorganismů způsobuje ztráty cukru. Jejich působením dochází ke vzniku kyselin, které zapříčiňují pokles hladiny pH, což podporuje hydrolyzu sacharosy.

Během procesu purifikace (čištění šťávy) jsou vytvořené invertní cukry, glukosa a fruktosa chemicky přeměněny na organické kyseliny. Společně s metabolicky produkovanými kyselinami zvyšují tyto kyseliny obsah sacharosy v melase. Dle literatury se obecně celkové ztráty cukru, způsobené činností mikroorganismů během zpracování řepy, pohybují v rozmezí 0,02–0,66 % (11, 12). To odpovídá denní ztrátě sacharosy 1,1–36,3 t v cukrovaru s denní kapacitou řezání řepy 5 500 t.

Během výroby byla aplikovaná různá antimikrobiální činidla, aby se zabránilo problémům s kvalitou a ztrátám cukru.

Konkrétně formaldehyd, chlornan sodný a produkty na bázi přírodních kyselin. Vzhledem k trendu ústupu od užívání formaldehydu jsou zaváděny alternativy jako sloučeniny na přírodní bázi, které jsou obecně považovány za bezpečné. Zejména s ohledem na regulační změny v agrární politice a cukerním režimu EU (ukončení kvótového režimu v říjnu 2017) a doprovodnou konkurencí s hlavními zeměmi vyrábějícími cukr byli evropští producenti cukru nuceni zvážovat strategie vedoucí k optimalizaci výnosu cukru v jejich výrobních závodech. V této souvislosti bylo vyvinuto úsilí na kontrolu růstu mikroorganismů v procesu extrakce pomocí inovativních metod. Vzhledem k tomu, že informací o mikrobiálních

Obr. 1. Vyluhování sladkých řízků v extraktoru hrušovanského cukrovaru



kontaminací v cukrovarech není mnoho, byla provedena studie s cílem zaměřit se na mikrobiální diversitu, včetně hlavních relevantních metabolitů během celého výrobního cyklu. Za tímto účelem byl sledován výrobní proces cukru v českém výrobním závodě v roce 2018/2019.

## Materiál a metody

### Použití desinfekčních prostředků

Testovací období trvalo déle než čtyři měsíce (září–prosinec 2018 a leden 2019) a bylo provedeno v cukrovaru s průměrnou denní kapacitou řezání 5 500 t. Z difuzní šťávy extraktorů (obr. 1.) byl analyzován obsah kyseliny mléčné. Odběr vzorků difuzní šťávy byl prováděn každé 2 hodiny ve 4 týdenních cyklech. Následně byla stanovena koncentrace kyseliny mléčné v odebraných vzorcích, k tomu byl využit automatický analyzátor SUPER GL. Jedná se o zařízení, které umožňuje stanovení glukosy a laktátu na enzymaticko-amprometrickém principu s biosenzorem. Zařízení obsahuje pumpy sloužící k transportu roztoku analyzátoru, kalibračního roztoku a vzorku skrze senzor. Uvnitř senzoru se nachází elektrody, které dělí od roztoků multivrstevnatá membrána, na níž se nachází imobilizované enzymy. Vlivem chemické reakce s imobilizovaným enzymem dochází ke změně na elektrodě, jejíž signál je pak výsledkem měření.

V rámci práce jsou porovnávány účinky dezinfekce na mikrobiologickou kontaminaci. Teplota při extrakci činila 75 °C a hodnota pH se pohybovala v rozmezí 4–6. Vzorek difuzní šťávy byl odebírán a měřen na příslušný parametr (obsah kyseliny mléčné) za různých technologických podmínek v extraktoru:

- těžení šťávy z řízků konvenční řepy za použití dezinfekce BetaStab<sup>®</sup>,
- těžení šťávy z řízků konvenční řepy při použití dezinfekce formaldehydem.
- těžení šťávy z řízků konvenční řepy při použití dezinfekce Defostab<sup>®</sup>,
- těžení šťávy z řízků konvenční řepy bez použití desinfekčních prostředků.

Následné technologické podmínky byly vzájemně porovnávány v souvislosti s obsahem kyseliny mléčné. K porovnání byly využity statistické metody.

Formaldehyd byl použit jako 30–40% vodný roztok. BetaStab a Defostab, přírodní deriváty biocidů, jsou vodné zásadité roztoky tvořené přírodními pryskyřicemi. Technicky byly podmínky v extraktoru udržovány co nejstabilnější. Za předpokladu, že se podmínky během vzorkování neměnily, byly vzorky odebírány ve stejnou denní dobu. Tekuté vzorky (500 ml) obsahující jemný materiál byly homogenizovány promícháním a supernatant byl rozdělen pro mikrobiologickou a chemickou analýzu. V biokampani nebyla použita žádná dezinfekce.

Obr. 2. Kultivace bakterií mléčného kvašení na deMan Rogosa Sharp agaru



### Stanovení úrovně bakteriální kontaminace

Bylo odebráno celkem 108 vzorků, které byly udržovány v chladicím prostředí (4–6 °C) maximálně 16 hodin. Životoschopné organismy byly zkoumány pomocí techniky křížového rozřezu na různých kultivačních médiích za odpovídajících kultivačních podmínek (tab. I.). Pro anaerobní inkubaci byla použita anaerobní komora (85 % N<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub> a 5 % H<sub>2</sub>). Zředěné vzorky na posouzení výskytu endospor byly pasterizovány na 75 °C po dobu 15 minut před povrchoým rozprostřením odpovídajících alikvot.

Po filtraci byla zkoumána tlaková voda, 50 ml vody přes sterilní 0,2µm filtr (MicroFunnel Supor 200, Pall Austria Filter GmbH, Vídeň, Rakousko), poté byl filtr umístěn na povrch kultivačního média a inkubován. Inkubační doba se lišila od normy Mezinárodní organizace pro standardizaci (ISO) kvůli vysokému výskytu mikroorganismů.

### Bakteriální metabolity

Mikrobiologické metabolity, jako je kyselina mléčná, kyselina octová, kyselina butylová a ethanol, byly analyzovány pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) (Thermo Scientific Ultimate 3000 System, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Vzorky byly odebrány na vzorkovacích místech a uloženy při –18 °C. Krátce po pomalém odmrazení vzorků při 4–6 °C byly zfiltrány přes 0,45µm filtr Chromafil GF/PET (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Německo) před vstříkáním alikvotů do válce (Aminex HPX-87H, Bio-Rad GmbH, Vídeň, Rakousko). Další postup byl dle doporučení výrobce s drobnými úpravami, kyselina sírová (5 mM) sloužila

Tab. I. Kultivační podmínky pro růst bakterií ze vzorků odebraných z extraktoru

Skupina mikroorganismů	Živé médium	Kultivační podmínky		
Aerobní mezofilní bakterie	PCA agar	aerobní	30 °C	20 h
Aerobní termofilní bakterie	PCA agar	aerobní	55 °C	20 h
Bakterie mléčného kvašení	deMan Rogosa Sharpe agar	anaerobní	30 °C	48 h
Aerobní termofilní sporotvorné bakterie	Tryptic soy agar	aerobní	65 °C	20 h
Fakultativně anaerobní termofilní sporotvorné bakterie	RCA agar	anaerobní	55 °C	20 h

Tab. II. Identifikace MO v extraktoru (pomocí MALDI-TOF MS)

Živné médium	N	n	Druh mikroorganismu	Hodnota
Aerobní mezofilní bakterie				
PCA agar	62	36	<i>Bacillus cereus</i>	≥2,0
			<i>Bacillus licheniformis</i>	≥2,2
			<i>Bacillus megaterium</i>	≥2,1
			<i>Bacillus mycoides</i>	≥2,2
			<i>Bacillus simplex</i>	≥2,0
			<i>Bacillus subtilis</i>	≥2,1
			<i>Bacillus thuringiensis</i>	≥2,0
			<i>Erwinia persicina</i>	≥2,1
			<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	≥2,0
			<i>Peanibacillus amylolyticus</i>	≥2,4
			<i>Pantotea agglomerans</i>	≥2,3
<i>Pseudomonas thivervalensis</i>	≥2,1			
Aerobní termofilní bakterie				
PCA agar	60	26	<i>Bacillus altitudinis</i>	≥2,0
			<i>Bacillus licheniformis</i>	≥2,0
			<i>Bacillus pumilus</i>	≥2,0
			<i>Bacillus subtilis</i>	≥2,2
			<i>Peanibacillus baerengoltzii</i>	≥2,3
			<i>Paenibacillus naphthalenovorans</i>	≥2,0
			<i>Pseudomonas thermotolerans</i>	≥2,2
<i>Streptococcus equinus</i>	≥2,2			
Bakterie mléčného kvašení				
deMan Rogosa Sharp agar	52	39	<i>Lactobacillus brevis</i>	≥2,0
			<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	≥2,0
			<i>Lactobacillus fermentum</i>	≥2,0
			<i>Lactobacillus hilgardii</i>	≥2,1
			<i>Lactobacillus plantarum</i>	≥2,4
			<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	≥2,0
Aerobní termofilní				
Tryptic soy agar	76	18	<i>Bacillus licheniformis</i>	≥2,0
			<i>Bacillus smithii</i>	≥2,2
			<i>Bacillus thermoamylovorans</i>	≥2,1
			<i>Geobacillus thermodenitrificans</i>	≥2,1
			<i>Thermoactinomyces sp.</i>	≥2,0
Fakultativně anaerobní termofilní sporotvorné bakterie				
RCA agar	59	29	<i>Bacillus altitudinis</i>	≥2,1
			<i>Bacillus licheniformis</i>	≥2,0
			<i>Bacillus megaterium</i>	≥2,2
			<i>Bacillus pumilus</i>	≥2,0
			<i>Bacillus simplex</i>	≥2,2
			<i>Bacillus smithii</i>	≥2,2
			<i>Bacillus thermoamylovorans</i>	≥2,0
			<i>Peanibacillus lactis</i>	≥2,3
			<i>Thermoactinomyces sp.</i>	≥2,4

N – počet inzulátů, n – počet identifikovaných izolátů.

jako eluent při průtokové rychlosti 0,6 ml·min<sup>-1</sup>. Metabolity byly detekovány při 210 nm s použitím UV-VIS detektoru (DAD 3000, Thermo Fisher Scientific Inc.). Lineární kalibrace byla prováděna mezi 10 a 1 000 mg·L<sup>-1</sup> s R<sup>2</sup> > 0,999 pro každý uvedený analyt. Vysokoúčinná iontoměničová chromatografie spojená s pulzní amperometrickou detekcí (PAD, Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA) byla použita pro detekci karbohydrátů (sacharosa, glukosa a fruktosa) za současného doporučení výrobce s malými úpravami. Byla provedena kvadratická kalibrace pomocí standartů glukosy, fruktosy a sacharosy mezi 0,1 a 10 mg·l<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup> > 0,999).

## Výsledky a diskuse

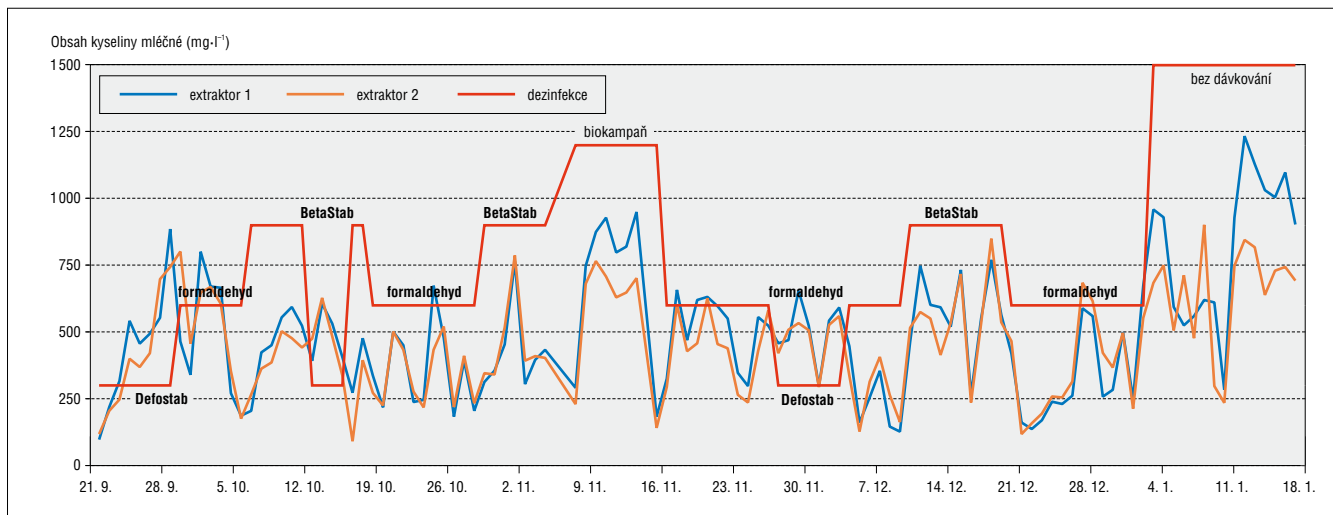
### Vliv délky zpracování včetně sklizně a doby skladování řepy na bakteriální úroveň extraktoru

Bylo zjištěno, že délka zpracování měla významný vliv na hladiny aerobních mezofilních a termofilních mikroorganismů, stejně jako na hladiny aerobních termofilních bakterií vytvářejících spory. Úroveň kontaminace byla tedy významně vyšší v prosinci a lednu než v říjnu. Tato zjištění jsou podporována hladinami mikrobiálních metabolitů. Kvůli mechanickému zpracování při sklizni a následné přepravě dochází k narušení samotných bulev. Toto poškození může podporovat mikrobiální kontaminaci, což je obzvláště problematické, pokud dochází k cyklům zmrazení a rozmrazení během skladování (6). Souběžně se zvyšuje koncentrace monosacharidů, především glukosy a fruktosy, v období od října do ledna. Lze předpokládat, že účinky jsou s největší pravděpodobností způsobeny skladováním řepy. Opětovné použití různých procesních vod při zpracování cukrové řepy lze považovat za další problematický krok, který působí mikrobiální zátěží při následných krocích technologického procesu těžení sacharosy.

### Hladiny mikroorganismů v extrakční oblasti

Vzhledem k tomu, že extrakce sacharosy je založena na protiproudu a principu zahrnující různé teploty a různé hladiny kyslíku a pH, nejvyšší celková bakteriální zátěž byla detekována v surové šťávě (22,0 log<sub>10</sub> CFU·ml<sup>-1</sup>) a řízkolisové vodě (18,0 log<sub>10</sub> CFU·ml<sup>-1</sup>). Mikrobiologická kontaminace v surové šťávě a v řízkolisové vodě sestávala hlavně z aerobních mezofilních bakterií (6,1 log<sub>10</sub> CFU·ml<sup>-1</sup> a 3,9 log<sub>10</sub> CFU·ml<sup>-1</sup>) a bakterií mléčného kvašení (6,4 log<sub>10</sub> CFU·ml<sup>-1</sup> a 5,4 log<sub>10</sub> CFU·ml<sup>-1</sup>). Jako hlavní aerobními mezofilními bakterie byly identifikovány rody *Bacillus*, *Leuconostoc* a *Pseudomonas* (tab. II.), přičemž dominovaly rody *Bacillus*. Mezi bakteriemi mléčného kvašení pak zejména zástupci *Lactobacillus* (*L. brevis*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum* a *L. plantarum*) (obr. 2., tab. II.). Tato zjištění jsou v souladu s dřívější studií ŠEREŠE ET AL. (13). Tito autoři považovali bakterie mléčného kvašení jako hlavní skupinu kontaminujících látek v cukrovaru (81,3 %), následovaný druhem *Bacillus* (14,8 %). Bakteriální polysacharidy v procesu extrakce cukru se tvoří hlavně bakteriemi mléčného kvašení, zejména *Leuconostoc mesenteroides*. Tento bakteriální druh tvořící gely byl nalezen v surové šťávě. Produkovaný dextran může vést k různým výrobním problémům, jako je zvyšující se viskozita šťáv vedoucí ke snížení rychlosti odpařování a nižší krystalizaci (14).

Obr. 3. Obsah kyseliny mléčné v extraktoru v kampani 2018/2019



Kvůli vyšším procesním teplotám při extrakci hrají významnou roli také termofilní bakterie. Izolovány byly za zvolených inkubačních podmínek hlavně z rodu *Bacillus*, ale také termotolerantní zástupci z rodu *Lactobacillus* (tab. II.). V souladu s předchozími studiemi (3, 10, 15, 16) byla přítomnost aerobních termofilních bakterií nejvyšší v řízkolisové vodě ( $3,3 \log_{10} \text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ ). Termofilní sporotvorné bakterie obvykle vstupují do procesu s řepou a mohou dokonce přežít výrobní kroky při vyšších teplotách (5, 7).

Hladiny anaerobních a aerobních termofilních bakterií vytvářejících spory byly v průběhu celého sledování na podobné úrovni. Je zřejmé, že v extrakční oblasti parametry jako teplota a hladina pH neměly významný vliv na vývoj spor.

#### Aplikace látek na přírodní bázi – chmelových kyselin a kalafuny

Historicky byla v roce 2005 použita různá antimikrobiální činidla při výrobě řepného cukru, která brání nežádoucímu růstu mikroorganismů. Formaldehyd (obvykle se používá jako formalin v 37% koncentraci) se široce používá kvůli nízkým nákladům. Jedná se ovšem o látku vysoce nebezpečnou, kvůli jeho dráždivým, mutagenním a karcinogenním vlastnostem. Snahou je tedy tuto látku nahradit přírodními antibakteriálními produkty, jako jsou chmelové kyseliny, kalafunové kyseliny a mastné kyseliny. Dlouhodobé zkušenosti s opakovaným dávkováním chmelových kyselin v kroku extrakce se ukázaly jako velmi účinné (17, 18).

Během kampaně byly použity dva typy dezinfekčního ošetření extraktoru, které jsou zde zároveň srovnávány s extrakcí bez dezinfekčního ošetření konvenční řepy.

Graficky vyjádřené výsledky poukazují na rozdíl mezi obsahy kyseliny mléčné při extrakci za použití dezinfekcí ve prospěch formaldehydu (obr. 3.). Abychom ověřili pravdivost tohoto tvrzení, bylo nutné jej také prověřit pomocí analýzy rozptylu. Byly zkoumány tři hypotézy, zda existuje statisticky významný rozdíl mezi použitím dezinfekce formaldehydem, BetaStab a Defostab. Analýza rozptylu byla provedena na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  při pravděpodobnosti  $p < 0,05$ . Kritická hodnota se stupni volnosti (1, 623) pro tento soubor dat činila

$F_{krit} = 3,8$ . Byla potvrzena hypotéza  $H_0$ , že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými dezinfekcemi.

Při srovnání dezinfikované difuzní šťávy s difuzní šťávou u konvenční cukrové řepy bez ošetření byl obsah kyseliny mléčné nejnižší při použití formaldehydu. Potvrzují se tak jeho silné baktericidní vlastnosti. Dezinfekce BetaStab a Defostab, které jsou založeny na přírodní bázi, mají ovšem srovnatelné účinky. Obdobné výsledky testování účinnosti BetaStabu v porovnání s formaldehydem uvádějí BENNÁR ET AL. (19), průměrný obsah kyseliny mléčné při použití formaldehydu v jejich studii dosahoval  $206 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , při použití BetaStabu  $346 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Obsah kyseliny mléčné v neošetřené difuzní šťávě zde činil v průměru  $591 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Při jiném experimentu byly testovány tři různé varianty dávkování pro BetaStab a formaldehyd. Autoři POLLACH ET AL. (20) se zabývali nahrazením formaldehydu právě zmíněnou dezinfekcí BetaStabem. Výsledky jejich studie jednoznačně naznačují velmi dostačující výsledky dezinfekce BetaStabu ve srovnání s formaldehydem. Zmiňují také skutečnost, že některé mikroorganismy jsou více rezistentní vůči dezinfekci, a tak je nutno dezinfekci střídat (20).

Chmelové kyseliny snižují transmembránový potenciál, což vede k určitému sníženému metabolickému potenciálu (21). Pokud je koncentrace produktu příliš nízká, je dávka pouze inhibiční a nelze pozorovat baktericidní účinky. SMITH A SMITH (22) uvádějí, že chmelové kyseliny v koncentraci 5 % (obj.) inhibují růst termofilních *Bacillus* spp. ve sladké mladině, ale v nižší koncentraci byl pozorován pouze zpomalený růst. Následkem toho není účinek na bakteriální růst inhibiční, ale spíše retardující.

Mechanismus působení kalafuny na bakterie není dosud podrobně pochopen, ale podobnost chemické struktury chmelových kyselin může být odrazovým můstkem. Jsou tak nutné další studie k prozkoumání antimikrobiálního mechanismu kalafunových produktů na bázi kyselin a k objasnění dostatečných baktericidních hladin.

#### Závěr

Během výroby cukru z cukrové řepy vstupují do procesu různé mikroorganismy pocházející z půdy, plavicí, povrchové vody, nebo společně s hlínou na povrchu základní suroviny.

V tomto kontextu hrají řízkolisová voda i surová šťáva hlavní roli jako vektory. Extrahovaná šťáva může být navíc (znovu) kontaminována, v závislosti na typu extraktoru. Jak se očekávalo, období hlavní kampaně, včetně období sklizně a doby skladování řepy, má zásadní vliv na vývoj mikrobiální kontaminace. Výrobní podmínky, jako je pH, teplota a dostupnost kyslíku, jsou dalšími faktory určujícími mikrobiologickou expanzi a její následný průběh. Tyto aspekty jsou dány vlastním procesem zpracování a nelze je ovlivnit. Nicméně mikrobiologická aktivita musí být pod kontrolou, aby se zabránilo ztrátám sacharosu a jiným technologickým problémům. Produkty na bázi přírodních kyselin mohou být považovány za zajímavou alternativu k běžně používanému formaldehydu, protože došlo k výraznému snížení počtu bakterií mléčného kvašení v celé extrakční oblasti. Současně se v tomto procesním kroku také snížily hladiny kyseliny mléčné, kyseliny octové, kyseliny máslé, glukosy a fruktosy.

I když tato studie přináší detailnější pohled na dynamiku růstu bakterií, mělo by být provedeno další důkladnější šetření s cílem získat více poznatků o fyziologických důsledcích ztrát sacharosu způsobených mikroorganismy.

### Souhrn

Při výrobě sacharosu z cukrové řepy vstupují do procesu výroby mikroorganismy, které pocházejí z rostlinného materiálu a půdy. Jejich činnost dochází ke vzniku slizu na bázi polysacharidů, který má nepříznivé účinky na filtraci při čištění šťávy. Některé mikroorganismy také metabolizují sacharosu, což vede ke ztrátám s finančními následky. Formaldehyd je velice účinný dezinfekční prostředek, avšak pro jeho negativní vlastnosti na lidské zdraví je vhodné jej nahradit jinými prostředky. BetaStab® a Defostab® dosáhly optimálních výsledků v rámci dezinfekce extraktoru a mohly by tak být zařazeny jako alternativa dezinfekčního prostředku formaldehydu. Důležité je však brát v potaz rezistenční schopnost mikroorganismů a při dezinfikování je nutno tyto prostředky střídát.

**Klíčová slova:** cukrová řepa, mikrobiální metabolity, kyselina mléčná, extrakce, dezinfekce.

### Literatura

1. EU sugar balance. Commission EU, 2019, [online] [https://ec.europa.eu/agriculture/sites/agriculture/files/marketobservatory/sugar/doc/presentation\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/agriculture/sites/agriculture/files/marketobservatory/sugar/doc/presentation_en.pdf), cit. 27. 6. 2019.
2. BOHN, K.: Zusammensetzung von Zuckerrübe und Zuckerrohr und das chemische Verhalten der Inhaltsstoffe während der Verarbeitung. In VAN DER POEL, P. W.; SCHIWECK, H.; SCHWARTZ, T. (ED): *Zuckertechnologie Rüben- und Rohrzuckerherstellung*. Berlin: Verlag Dr. Albert Bartens KG, 2000, s. 123.
3. ROBLES-GANCEDO, S.; LÓPEZ-DÍAZ, T. M.; OTERO, A.: Microbiological counts during beet sugar extraction. *J. Food Prot.*, 72, 2009, s. 1332–1337.
4. WRIGHT, M.: Microbiology in the sugar industries. *Zuckerind./ Sugar Ind.*, 143, 2018, s. 83–87.
5. BERGWALL, C.: New microbiological challenges for the sugar industry with focus on thermophilic acidophilic bacteria. *Zuckerind./ Sugar Ind.*, 143, 2018, s. 28–32.
6. ABRAHAM, K.; FLÖTER, E.: New approaches for the determination of dextran in the sugar production process. *Zuckerind./ Sugar Ind.*, 143, 2018, s. 1–9.
7. POLLACH, G. ET AL.: Detection and control of strictly anaerobic, spore-forming bacteria in sugarbeet tower extractors. *Zuckerind./ Sugar Ind.*, 127, 2002, s. 530–537.

8. KLAUSHOFER, H.; PARKKINEN, E.: Zur Frage der Bedeutung aerober und anaerober thermophiler Sporenbildner als Infektionsursache in Rübenzuckerfabriken. *Zuckerind.*, 8, 1965, s. 445–449.
9. KLAUSHOFER, H.; POLLACH, G.: Zur Frage des Zuckerverlustes durch hochthermophile Mikroorganismen in Extraktionsanlagen von Rübenzuckerfabriken. *Zucker*, 25, 1972, s. 602–609.
10. OIKAWA, S.; SENBA, Y.; SAYAMA, K.: Sugar beet extraction without formalin – 15 year's experience in Japan. *Zuckerind.*, 118, 1993, s. 30–34.
11. KRÜGER, W.: *Ueber Infektion und Zuckerverlust im Diffusionsturm*. Commission internationale technique de sucrerie; 1957.
12. BIDAN, P.; BLANCHET, M.; GENOTELLE, J.: Evaluation expérimentale des pertes de sucre d'origine microbienne en diffusion. *Industries Alimentaires et Agricoles*, 80, 1963, s. 717–720.
13. ŠEREŠ, Z ET AL.: Application of biocides in the process of sucrose extraction from sugar beet: effect on sucrose content, number of *Leuconostoc* colonies and wet pulp characteristics. *LWT – Food Sci. Technol.*, 75, 2017, s. 17–24.
14. ABRAHAM, K.; FLÖTER, E.: New approaches for the determination of dextran in the sugar production process. *Zuckerind./ Sugar Ind.*, 143, 2018, s. 1–9.
15. ABDU, M. A. F.: Über thermophile Mikroorganismen in der Zuckerfabrikation. *Zucker*, 23, 1970, s. 258–265.
16. MEISEL, C.; MICHELBERGER, T.; WITTE, G.: Formation of flammable gas mixtures in extraction towers and procedures for its avoidance. *Zuckerind.*, 122, 1997, s. 186–193.
17. LITEPLO, R. G. ET AL.: *Formaldehyde*. World Health Organization; 2002. Contract No. 40, s. 29–48.
18. SALTHAMMER, T.; MENTESE, S.; MARUTZKY, R.: Formaldehyde in the indoor environment. *Chem. Rev.*, 110, 2010, s. 2536–2572.
19. BENNAR, M ET AL.: Vpiv dezinfekčních činidel na extrakci sacharosu z cukrové řepy. *Listy cukrov. řepář.*, 126, 2010 (12), s. 449–452.
20. POLLACH, G.; HEIN, W.; BEDDIE, D.: Application of hop  $\beta$ -acids and rosin acids in the sugar industry. *Zuckerind./ Sugar Ind.*, 127, 2002 (12), s. 921–930.
21. TEUBER, M.; SCHMALRECK, A. F.: Membrane leakage in bacillus subtilis 168 induced by the hop constituents lupulone, humulone, isohumulone and humulinic acid. *Arch. Microbiol.*, 94, 1973, s. 159–171.
22. SMITH, N. A.; SMITH, P.: Antibacterial activity of hop bitter resins derived from recovered hopped wort. *J. Inst. Brew.*, 99, 1993, s. 43–48.

### Horák R.: Effect of Disinfectants Use on Bacterial Growth in Extractor Environment

The process of sucrose production from sugar beet gets contaminated by microbial contaminants from the raw material and soil. The microbial activity results in the formation of slime on the basis of polysaccharides, which has an unfavorable effect on filtration during juice purification. Some microorganism also metabolize sucrose, which leads to losses accompanied by financial consequences. Formaldehyde is a very effective disinfectant, but due to the negative effects on human health, it is advisable to replace it with other alternatives. BetaStab® and Defostab® achieved optimum results in extractor disinfection and could therefore be included as alternatives to formaldehyde disinfectant. However, it is important to keep in mind the resistance ability of microbes and it is necessary to rotate the products used for application.

**Key words:** sugar beet, microbial contaminants, lactic acid, extraction, disinfection.

### Kontaktní adresa – Contact address:

Mgr. Radek Horák, Ph.D., Moravskoslezské cukrovary, s.r.o., Cukrovarská 657, 671 67 Hrušovany n. Jev., Česká republika, e-mail: radek.horak@agrana.com