

SLEDOVANIE RASTU BAKTÉRIÍ V POTRAVINÁCH V ZÁVISLOSTI OD VPLYVU TEPLoty A DĹŽKY DOBY SKLADOVANIA ZA CHLADU

Príspevok k výskumnému programu TTT

JÁN ARPAI A MARTA GRÓFOVÁ

Rýchlosť chemických a tak aj biologických, resp. mikrobiologických procesov je tým menšia, čím nižšia je teplota. Tento poznatok sa využíval pri uchovávaní ľahko skaziteľných potravín chladom a mrazom už dávno predtým, než ho matematicky formuloval van't Hoff. Výhody tohto spôsobu konzervácie sú v minimálnom poškodení biologicky cenných, avšak labilných zložiek rastlinného a živočíšneho materiálu, nevýhody v obmedzenom čase bezpečnej skladovateľnosti. Vzťahuje sa to najmä na konzerváciu pomocou tzv. chladiarenských teplôt, ktoré sú okolo bodu mrazu a málo nad ním. Pri týchto teplotách sa len spomaluje, nijako sa však ale nezastaví aktivita enzýmov a mikroorganizmov. Na to sú potrebné už hlboké teploty, ktoré nielenže sú nákladné, ale fyzikálnymi a chemickými pochodmi zasahujú aj do štruktúry biologických látok, čo najmä pri neopatrnom rozmrazovaní môže mať za následok poškodenia akosti konzervovaného materiálu. Preto tam, kde s tým časove vystačíme, je chladiarenské uchovávanie potravín veľmi výhodné. Treba len vedieť, kde ho možno aplikovať, resp. za aký čas sa v chlade, resp. v chladničke dajú skladovať jednotlivé druhy potravín. V literatúre sú niektoré údaje, normy, resp. celé tabuľky, ktoré uvádzajú dĺžku času bezpečnej skladovateľnosti pre rôzne druhy ovocia, zeleniny, mäsa a pod. (Bäckström 1959, Plank 1930). Tieto parametre sa opierajú o poznatok, že teplotný koeficient (Q_{10}) prevažnej väčšiny biochemických procesov leží v rozmedzí hodnôt 2 až 3, t. j. zníženie teploty o 10 °C má predĺžiť čas skladovateľnosti 2 až 3 krát. Podľa toho by sa potravinu dala udržať v chladničke desaťkrát tak dlho ako pri izbovej teplote. To sa však v praxi dá aplikovať len vo veľmi obmedzenej miere, čoho sú si vedomí aj autori týchto tabuliek, ktorí preto tolerujú časové výkyvy o 300 i viac %. Nie je to ani inak možné, lebo pritom sa uplatňuje toľko limitujúcich faktorov, že sa nedať uviest na spoločného menovateľa. Sú to menovite špecifické druhové vlastnosti živočíšneho materiálu alebo sortové zvláštnosti rastlinného materiálu; stav indukcie hydrolytických a oxydatívnych procesov, najmä pod vplyvom kontaminujúcej mikroflóry, ktorej množstvo a zloženie majú limitujúci vplyv na údržnosť potravinárskeho materiálu, ako sme na to už poukázali v predošlých prácach (Arpai, Bánhegyiová 1959, Arpai 1960, Arpai, Behűn, Duchoň 1960).

Osobitný význam z tohto hľadiska má prítomnosť, resp. výskyt tzv. psychrofilných alebo psychrotolerantných organizmov, akými sú niektoré druhy rodu *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* ako aj kokovité baktérie. O kvasienkovitých mikroorganizmoch a plesniach je známe, že sú schopné rásť aj

pri teplotách hlboko pod bodom mrazu, ak sú dané podmienky, ktoré umožňujú tento rast, najmä vyšší stupeň vlhkosti a fyziologicky vhodné zloženie prostredia. Chladomilné mikróby tvoria síce za obvyklých podmienok len malý zlomok mikroflóry potravín, za chladiarenských podmienok však dochádza k selekčnému zvýhodneniu psychrofilov, ktoré sa takto stávajú dominujúcou zložkou mikróbovej populácie a prejavujú svoje značné biochemické predovšetkým proteolytické a lipolytické schopnosti vyvolávajúce pomerne rýchle kazenie potravín (Noskova, Pek, Mojsejeva 1958; Arpai 1961a, b).

Rast mikroflóry za hypotermických podmienok sa však nemusí obmedziť iba na saprofytické organizmy. Viacerí autori uvádzajú, že aj patogenné a toxinné druhy baktérií sa rozmnožujú pri chladiarenských teplotách (Prescott a Geer, 1936; Miller a Smull, 1955; Angelotti, Foter a Lewis, 1961). Naproti tomu iní tvrdia, že choroboplodné mikroorganizmy za chladu odumierajú (Fitzgerald 1947; Blach a Lewis, 1948; Gorill a Mc Neil 1960). Tieto protirečenia však nenasvedčujú nesprávnosti publikovaných výsledkov, ale skôr tomu, do akej miery vplývajú špecifické vlastnosti a fyziologický stav mikroflóry v komplexnej závislosti od podmienok prostredia na účinky chladu. Vychádzajúc z tohto stavu pristúpili sme k pokusom, ktorých cieľom bolo sledovať ako sa správajú potravinársky významné mikroorganizmy v rozmedzí teplôt aplikovaných v priemyselných chladiarňach a distribučných, resp. domácich chladničkách.

Pokusná časť

Materiál a metódy

Rozmnožovanie za hypotermických podmienok sme sledovali v potravinách inokulovaných

- a) čistou kultúrou testorganizmov,
- b) pomocou komplexnej mikroflóry.

Testorganizmy: Pre pokusy s čistou kultúrou sme použili psychrofilné kmene *Pseudomonas fluorescens* a *Achromobacter liquefaciens*, ako aj mezofilné kmene *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Základné kultúry týchto štyroch kmeňov sme pred pokusmi udržiavali na šikmom agare a to psychrofilu pri kultivačnej teplote 25 °C, mezofily 37 °C.

Inokulácia: Pri príprave očkovacej suspenzie čistej kultúry sme postupovali tak, že 24 hodinový porast šikmého agaru sme zmyli sterilným 0,1 % peptónovým roztokom do nefelometrickej kyvety. Po dôkladnom pretrepaní pomocou sklenených guľôčok sme hustotu suspenzie v kyvete riedili tak, aby jej zákal meraný na Langeho kolorimetri model UK VII s filtrom BG 7 (644 m μ) upravenom pre fotonefelometriu, zodpovedal približnej koncentrácii 5×10^9 množiacich sa buniek v ml. Príslušnú kalibráciu sme robili zriedňovacou metódou s počítaním na platniach ako v obdobných prácach (Arpai 1961c).

Pre prípravu inokula komplexnej mikroflóry sme zo zmesi rozdrobených surovín určených pre kuchynskú prípravu pokusných jedál odobrali 25 g, zaliali 250 ml sterilného bujónu a nechali inkubovať 24 hodín v Erlenmayerovej banke. Ďalej sme postupovali tak, ako pri príprave očkovacej suspenzie z čistej kultúry. Týmto sme získali inokulum obsahujúce komplexnú, nešpecifikovanú mikroflóru potravín, pričom koncentrácia a zloženie inokula bolo nemenné i keď nie kvalitatívne presne definované. Počas kvantitatívneho stanovenia kultiváciou na

platniach sme však orientačne zistili prevažujúce zloženie mikroflóry, ktoré bolo charakteristické pre daný druh potravín (Arpai, Janotková, 1958; Arpai, Bánhegyiová, 1960).

Očkovanie kuchynsky pripravených a v turmixe homogenizovaných pokrmov sme robili tak, že sme 50 g vzorky materiálu dali do 100 ml Erlenmayerových baniek, sterilizovali v autokláve a po vychladnutí sme do nich mechanicky dôkladne zamiešali po 0,1 ml základnej bakteriálnej suspenzie. Takto inokulovaný materiál obsahoval asi 10^7 mikroorganizmov v grame. Počiatočná koncentrácia mikroorganizmov v pokusnej potravine (N_0) sa spresnila stanovením celkového počtu platňovou metódou. Každý druh materiálu sme sledovali dvojmo, každé kvantitatívne stanovenie sa robilo v troch opakovaníach. Z výsledkov sa vypočítal aritmetický priemer, ktorý slúžil ako údaj pre počiatočný bod rastových kriviek.

Charakteristika potravín: Rast mikroorganizmov sme sledovali v troch druhoch pokusných jedál, pripravených v kulinárnom oddelení ústavu.

Typ A predstavoval zeleninové jedlo, a to karfiolové pyrú, ktoré okrem karfiolu obsahovalo múku, maslo a toľko askorbovej kyseliny, že výsledné pH sa znížilo na 5,5.

Typ B mal charakter mäsitého pokrmu; bolo to hovädzie hašé, zložené z mletého mäsa, zeleného hrášku, múky, mlieka, masla, soli a toľko kyseliny askorbovej, že výsledné pH homogenizovaného materiálu sa upravilo na hodnotu okolo 6.

Typ C reprezentoval múčne jedlo, t. j. puding, ktorý bol pripravený z mlieka, masla, vajičiek, cukru a tzv. maizeny. pH tohto jedla bolo asi 7.

Teplotné podmienky: Naočkované potraviny naplnené do Erlenmayerových baniek sa súbežne kultivovali v termostate a kryostatoch tak, aby materiál

s mezofilnými baktériami bol vystavený teplote 35, 10, 5 °C,

s psychofilnými baktériami 5, 2, 0, -2 °C,

s komplexnou mikroflórou 35, 5, 0, -2 °C.

Sledovanie rastu: Počas 5 dní sme v 24 hodinových intervaloch odobierali zo sledovaného materiálu priemerné vzorky o váhe 4–5 gramov. V nich sme určili počet mikroorganizmov zriedovacou metódou s počítaním na platniach mäso-peptónového agaru a s bakterioskopickým stanovením celkového počtu v Thomovej komôrke. Z oboch meraní sme vypočítali aritmetický priemer a výsledky vzťahovali na 1 gram materiálu (N_t). Inkubácia platní pri práci s čistými kultúrami psychrofilov sa robila pri 25 °C, v prípade mezofilov pri 37 °C a komplexnú mikroflóru súbežne pri oboch teplotách, z príslušných výsledkov sa vypočítali priemery. Platne sa odčítali po 24 a 48 hodinách, psychrofilu ešte aj po 72 hodinách.

Z priemerných hodnôt (N_t) sme zostrojili rastové krivky a vypočítali príslušné koeficienty rýchlosti rastu podľa smernice priamky danej rovnicou $\ln N_t = k \cdot t + \ln N_0$. Túto rovnicu sme vypočítali na vzorec:

$$k = \frac{\log N_t - \log N_0}{0,4343 \cdot t}$$

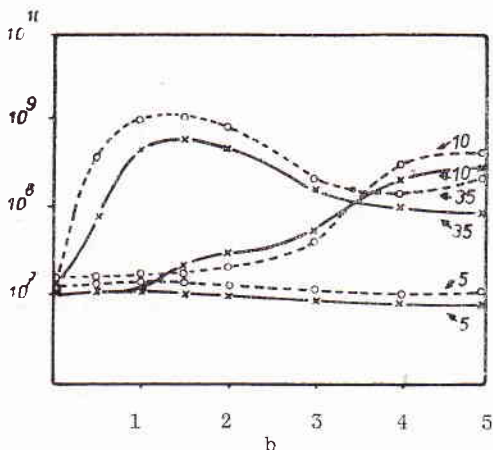
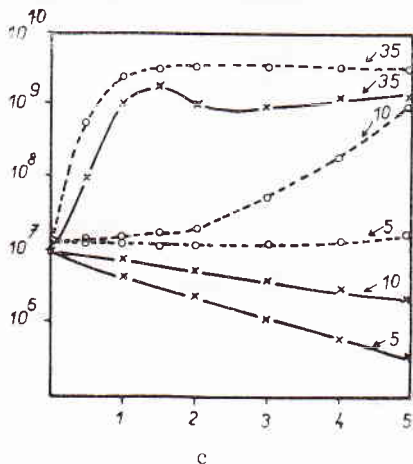
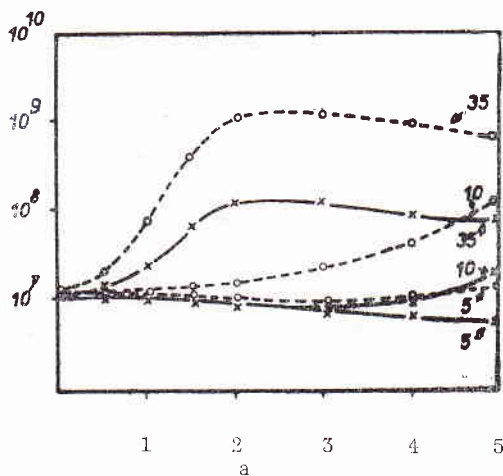
Generačná doba (g) sa vypočítala podľa vzorca:

$$g = \frac{t \cdot \log 2}{\log N_t - \log N_0}$$

Štatistický výpočet: Významnosť rozdielov sme vypočítali podľa Studentovho t-testu, pri konvenčnej hranici významnosti $P < 0,05$.

Výsledky

Priebeh rastových kriviek a príslušné hodnoty rýchlostných konštánt ukazujú, že sledované faktory a to menovite chladiarenská teplota, zloženie, resp. pH potraviny výrazným spôsobom vplyvajú na fyziologickú aktivitu jej mikrobiálnych kontaminantov. Pokusné výsledky znázornené na obrazoch 1a, 1b a 1c nasvedčujú, že medzi dvoma mezofilnými kultúrami *Staph. aureus* a *E. coli* sú značné rozdiely v ich fyziologickej reakcii na teplotu a zloženie prostredia, pri-



Obr. 1a. Rast mezofilných testorganizmov *Staphylococcus aureus* (vyznačený trhanou čiarou) a *Escherichia coli* (vyznačený plnou čiarou) v zeleninovej potravine o pH asi 5,5, pri teplotách 35, 10 a 5 °C. Na osi úsečík čas sledovania rastu v dňoch, na osi poradnic počet mikroorganizmov v grame vzorky.

Obr. 1b. Ako na obr. 1a avšak v mäsitom jedle o pH asi 6.

Obr. 1c. Ako na obr. 1a avšak v múčnom jedle o pH asi 7.

čom proporcionálna závislosť rýchlosti rastu od teploty ustupuje vplyvom zloženia t. j. výživovej hodnoty a pH prostredia. To vidieť z toho, že v zeleninovom materiáli, t. j. v karfiolovom pyré o pH 5,5 sa počas trvania pokusného sledovania pri teplote 5 °C mezofilné testorganizmy nerozmnožovali, naopak ich počet aj o málo poklesol. I keď kvóta odumierania bola veľmi nízka, mala u escheríchií kontinuálny charakter, kým u stafylokokov sa rast ku koncu času pokusného sledovania obnovil, čo si vysvetľujeme adaptačným alebo selektčným procesom (Arpai, 1961d). O tom, že odumieranie escheríchií treba pripísať účinkom hypo-

termického prostredia a nie prítomnosti antimikrobiálnych látok v substráte typu A, svedčia výsledky našich ďalších pokusov najmä s inokulovanými múčnymi potravinami (typ C), ako aj literárne údaje (Angelotti, Foter a Lewis, 1960). Stafylokoky javili však nielen vyššiu rezistenciu voči chladu, ale pri teplotách 10 a 35 °C sa aj významne rýchlejšie rozmnožovali ako escheríchie. Vidieť to tiež z údajov tabuľky 1.

V potravinách typu B, t. j. v hovädzom haše o pH~6 sme už nezistili významné kvantitatívne rozdiely v rýchlosti a priebehu rastu alebo prípadného odumierania sledovaných mezofilov. Prostredie bohaté na bielkoviny, ktoré má pH blízke fyziologickému optimu testorganizmov, účinkovalo na ne ochranné a za týchto

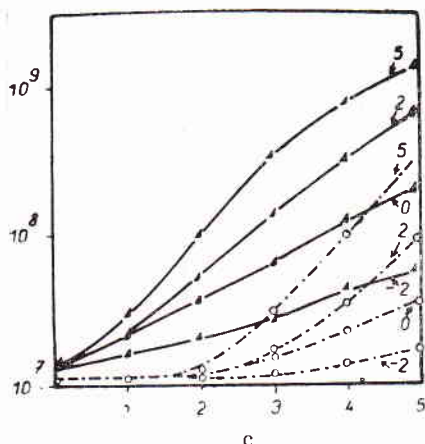
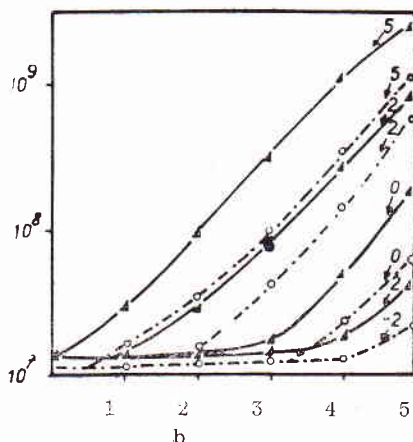
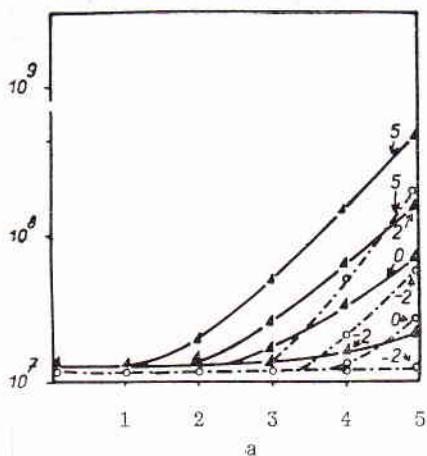
Tabuľka 1
Vplyv teploty na koeficienty rýchlosti rastu mezofilných testorganizmov
v pokusných potravinách (1. deň)

Mikroorganizmus	t °C	Inokulovaná potravina typu		
		A zeleninová pH 5,5	B mäsitá pH 6	C múčna pH 7
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	0,0868	0,1924	0,2540
	10	0,0289	0,0383	0,0039
	5	0,0000	0,0289	0,0000
<i>Escherichia coli</i>	35	0,0459	0,1708	0,1924
	10	0,0000	0,0039	(—0,0091)
	5	0,0000	0,0000	(—0,0230)

podmienok chlad pri 5 °C nepôsobil baktericídne ani na *E. coli*. Rýchlosť rastu sa pri 10 °C výrazne zvýšila a pri 35 °C bola taká, že počas sledovania rastovej krivky došlo až k fáze zrýchlenej úmrtnosti.

Výsledky pokusov so sledovaním rastu mezofilov v múčnom pokrme o pH~7 (typ C) boli zaujímavé najmä tým, že v tomto prostredí pôsobila teplota 5 °C značne a 10 °C ešte mierne zníženie počtu živých baktérií *E. coli*. Vysvetlenie pre toto bude treba hľadať v nižšom ochrannom účinku média. Experimentálna chyba je nepravdepodobná vzhľadom na naše paralelné pokusy a na skoro obdobné výsledky so salmonelami zaznamenané už opätovne citovanými autormi (Angelotti, Foter a Lewis, 1961). Rast stafylokokov dosahuje v tejto potravine najvyšší koeficient rýchlosti (pozri tabuľku 1) a najvyššiu hustotu na konci času pokusného sledovania. Posledné platí nielen pre 35 °C, ale aj pre inkubačnú teplotu 10 °C.

Rast psychrofilných testorganizmov *Achromobacter liquefaciens* a *Pseudomonas fluorescens* znázorňujú krivky na obrazoch 2a, 2b a 2c. Z nich vidieť, že teplota ovplyvňuje jednak dĺžku lag fázy a jednak exponenciálnu rýchlosť rastu, ale rozdielnou mierou. Na lag fázu použitých testorganizmov pôsobila teplota veľmi rozdielne. *Ps fluorescens* potreboval vo všetkých prípadoch o vyše 100 % dlhší



Obr. 2a. Rast psychrofilných testorganizmov *Achromobacter liquefaciens* a *Pseudomonas fluorescens* v zeleninovej potravine o pH asi 5,5 pri teplotách 5, 2, 0 a -2°C . Označenie súradníc ako u obr. 1a.

Obr. 2b. Ako na obr. 2a avšak v mäsitom jedle o pH asi 6.

Obr. 2c. Ako na obr. 2a avšak v mliečnom jedle o pH asi 7.

čas na adaptáciu, resp. začiatok rozmnožovania, ako *Achr. liquefaciens*. Na exponenciálnu rýchlosť rastu však nemala teplota taký významný vplyv. Rozdiely v dĺžke generačnej doby v exponenciálnej fáze rastu medzi sledovanými psychrofilnými baktériami nepresahovali spravidla 10 %. Obdobne malé sú aj rozdiely rýchlostných konštánt vyčíslených v tabuľke 2.

Špecifické vplyvy jednotlivých typov potravinových substrátov, najmä ich pH sa prejavili aj na raste tejto skupiny testorganizmov, pričom na *Ps. fluorescens* pôsobilo znížené pH zeleninového jedla (typ A) pomerne viac inhibične, ako na *Achr. liquefaciens*. Mäsitá potravina (typ B) sa ukázala pre tieto organizmy ako optimálne médium, v ktorom generačná doba u *Achr. liquefaciens* trvala pri 5°C asi 6 hodín, pri 2°C asi 9,5 hodín, pri 0°C asi 13,5 hodín a pri -2°C asi 18 hodín. Pre *Ps. fluorescens* sú príslušné generačné doby v priemere o 10 % dlhšie. Mliečnaté jedlo typu C bolo zvlášť výhodným prostredím k diferenciacii rýchlosti rastu oboch druhov testorganizmov ako sa to názorne odzrkadľuje z údajov tabuľky 2.

Tabuľka 2
Vplyv teploty na koeficienty rýchlosti rastu psychrofilných testorganizmov
v pokusných potravinách (4. deň)

Mikroorganizmus	t °C	Inokulovaná potravina typu		
		A	B	C
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	5	0,01905	0,0410	0,0229
	2	0,0112	0,0250	0,0154
	0	0,0013	0,0130	0,0120
	-2	0,0000	0,0013	0,0013
<i>Achromobacter liquefaciens</i>	5	0,0242	0,0456	0,0451
	2	0,0199	0,0361	0,0397
	0	0,0157	0,0176	0,0252
	-2	0,0061	0,0072	0,0180

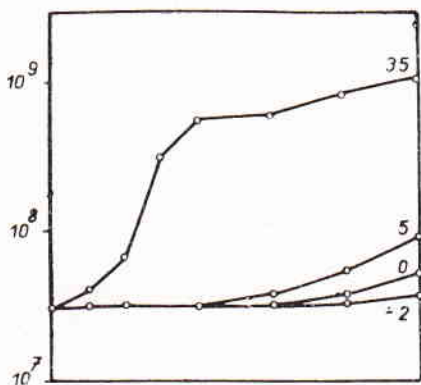
Tabuľka 3
Vplyv teploty na koeficient rýchlosti rastu komplexnej mikroflóry
v pokusných potravinách (1. deň)

Mikroorganizmus	t °C	Inokulovaná potravina typu		
		A	B	C
Komplexná mikroflóra	35	0,0231	0,1250	0,1125
	5	0,0000	0,0000	0,0000
	0	0,0000	0,0000	0,0000
	-2	0,0000	0,0000	0,0000

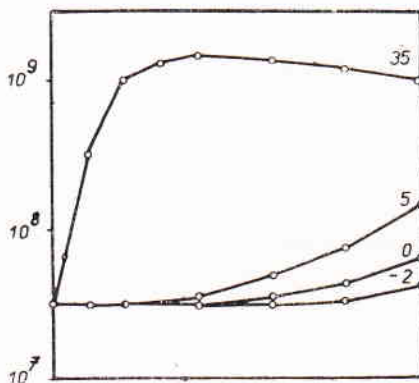
Koeficienty rýchlosti rastu v 4. deň kultivácie

Mikroorganizmus	t °C	Inokulovaná potravina typu		
		A	B	C
Komplexná mikroflóra	35	0,0297	0,0321	0,0456
	5	0,0038	0,0057	0,0099
	0	0,0018	0,0042	0,0044
	-2	0,0000	0,0018	0,0018

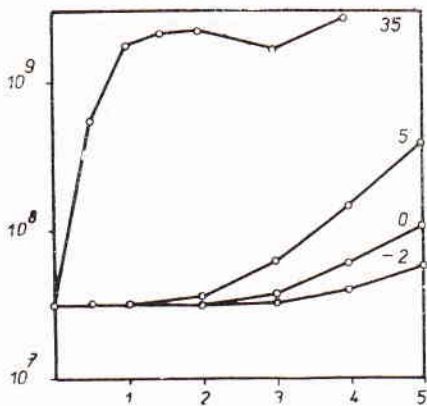
Zvlášť zaujímavé sa nám zdali byť výsledky sledovania rastu komplexnej mikroflóry graficky znázornenej na obrazoch 3a, 3b a 3c. Dokazujú, že prakticky vždy sa nachádza v komplexnej mikroflóre potravín psychofilná zložka, ktorej rastová charakteristika za hypotermických podmienok sa kvalitatívne zhoduje s príslušnými rastovými ukazovateľmi čistých psychofilných kultúr. Podobne aj rastové krivky kultúr vyrastených zo zmesného inokula sa pri 35 °C len málo líšia od priebehu rastu čistej kultúry mezofilov menovite stafylokokov. Vyplýva



a



b



c

Obr. 3a. Rast komplexnej mikroflóry v zeleninovom jedle o pH asi 5,5 pri teplotách 35, 5, 0 a -2 °C. Označenie súradníc ako u obr. 1a.

Obr. 3b. Ako na obr. 3a avšak v mäsitom jedle o pH asi 6.

Obr. 3c. Ako na obr. 3a avšak v múčnom jedle o pH asi 7.

to aj z hodnôt koeficientov rýchlosti rastu vyčíslených v tabuľke 3, ktoré sa v uvedenej relácii nelíšia štatisticky významným spôsobom ($P < 0,05$) od konformných hodnôt rýchlostných konštánt mezofilov v tabuľke 1; resp. rýchlostných konštánt psychrofilov v tabuľke 2.

Rozmach spotreby, resp. výroby hotových jedál, polotovarov a nízkoteplotne konzervovaných potravín aktualizuje problém ich bezpečného uchovávaní v chlade ako účinnej formy predchádzania alimentárnym ochoreniam. Z predložených výsledkov vidieť, že chladničky v domácnosti a chladiarne v distribúcii zaručujú úplnú ochranu potravín pred rozmnožovaním mikroorganizmov len pri jednodennom uložení. Pri ďalšom uchovávaní, t. j. na 2 dni musí byť záruka toho, že teploty nevystúpia nad 5 °C. Ale ani táto teplota ešte nechráni potraviny dlhšie ako 5 dní, lebo chladomilné mikroorganizmy sa intenzívne rozmnožujú ešte aj pri tejto teplote. Pritom treba počítať s tým, že každá nesterilná potravinu môže obsahovať psychrofilné mikroorganizmy. Na základe našich poznatkov sú potraviny pred rastom psychrofilov chránené iba teplotami od -7 °C nižšie.

Vzhľadom na to, že vlastnosti potravín, akosť a množstvo kontaminujúcej mikroflóry ako aj charakter prostredia podmieňujú konzervačný účinok chladu, treba čas, po ktorý možno uchovávať potraviny bez ujmy na akosti vymedziť tak, aby zodpovedal aj v prípade, že limitujúce činitele v mnohých prípadoch inaparentné, pôsobia nepriaznivo. Inými slovami je vždy na mieste počítať s istým „koeficientom bezpečnosti“. Medzi vplyvy málokedy kontrolované patrí aj teplota, ktorú majú potraviny pri uložení do chladu. Keď sa totiž mikroorganizmy dostávajú ešte na teplé, t. j. neochladené médium, lepšie znášajú nasledujúce ochladenie ako v prípade, že médium má už nízku teplotu v čase kontaminácie. Z toho vyplýva požiadavka, že potraviny treba chladiť tak rýchlo, a tak hlboko ako len možno a to hneď po ich príprave, resp. výrobe. Rýchlosť ako sa znižuje teplota potraviny pri jej chladení je závislá od rozdielu medzi teplotou chladiaceho prostredia a potravinárskeho materiálu, od akosti obalov, ktorou sa podmieňuje rýchlosť prestupu chladu, na zložení a objeme potraviny z hľadiska tepelnej vodivosti.

Ak z práce vyplýva mnohostranná závislosť inhibičného účinku chladu, ktorá skrýva v sebe isté riziká z hľadiska jeho konzervačnej účinnosti, tak treba súčasne poukázať aj na tie výsledky, z ktorých vyplýva, že na hygienicky obzvlášť závadné črevné baktérie podchladenia často pôsobi letálne. Nakoniec treba poznamenať, že poznatky o synergizme bakteriostatického účinku chladu a zníženého pH má široké možnosti upotrebenia v praxi.

S ú h r n

Sledoval sa rast mezofilných druhov *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*, psychrofilných druhov *Achromobacter liquefaciens* a *Pseudomonas fluorescens* ako aj komplexnej mikroflóry potravín pri optimálnej teplote a za chladu, t. j. pri 5, 2, 0, -2 °C. Ako rastové médium používali sme 3 typy sterilných pokusných jedál, a to zeleninové pyrė (s pH upraveným na 5,5), mäsové haše (pH~6) a múčnatý puding (pH~7). Tieto boli suspenziou testorganizmov štandardným spôsobom inokulované a kvantitatívne sledované počas 5 dní. Stanovovali sa rastové krivky a príslušné rýchlostné konštanty pre jednotlivé druhy mikroorganizmov za všetkých pokusných podmienok.

Z výsledkov vyplýva, že na vzťah medzi časom rastu a teplotou, ktorým je prvorade určené množstvo mikroorganizmov v prostredí, vplýva zloženie, najmä pH ako aj obsah živných a ochranných látok média. Zistilo sa, že *E. coli* sa ne-

rozmnožuje v sledovanom období 5 dní pri teplotách pod 10 °C a vo fyziologicky menej vyhovujúcom prostredí ani pri tejto teplote. Stafylokoky však rástli aj za týchto podmienok a v každom prípade rýchlejšie ako escheríchie. Sledované psychrofilny sa intenzívne rozmnožovali ešte aj pri -2 °C, pričom *Achromobacter liquefaciens* mal v mäsitom médiu generačnú dobu asi 18 hodín, *Pseudomonas fluorescens* za tých istých podmienok približne o 10 % dlhšiu. Nešpecifikovaná, resp. komplexná mikroflóra rástla za mezofilných podmienok podobne ako čisté kultúry stafylokokov, jej rast za chladu poukázal však na to, že obsahuje aj psychrofilnú zložku.

Prísne vzaté, z výsledkov vyplýva, že pri chladiarenskom uchovávaní ľahkoskaziteľných potravín po dobu dlhšiu ako 1 deň, treba znížiť teplotu pod 5 °C, a to nielen v okolí a na povrchu potravín, ale aj v ich jadre. Táto teplota vo všeobecnosti vystačí iba do 5 dní, dlhšie skladovanie si vyžaduje zmrazovanie. Úpravou zloženia potravín, najmä znížením ich pH, možno vystupňovať inhibičný účinok chladu na mikroorganizmy. Za týchto podmienok niektoré druhy baktérií ako napr. *E. coli* aj odumierajú.

НАБЛЮДЕНИЯ ЗА РОСТОМ БАКТЕРИЙ, НАХОДЯЩИХСЯ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, ЗАВИСЯЩИМ ОТ ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ И ВРЕМЕНИ ХРАНЕНИЯ В ХОЛОДЕ

Резюме

В работе приводятся результаты наблюдений, которые велись за ростом мезофильных видов *Staph. aureus* и *E. coli*, психрофильных родов *Achr. liquefaciens* и *Ps. fluorescens*, и комплексной микрофлоры, изолированной из пищи при оптимальной температуре и в холоде, то есть при температуре 5, 2, 0, -2 Ц. В качестве питательной среды были использованы три типа стрелыной подопытной пищи — овощное пюре (с pH на 5,5), мясной фарш (pH — 6) и мучнистый пудинг (pH — 7). В пищу была, обычным образом, привита суспензия тесторганизмов, и за ней велись количественные наблюдения, в течение пяти дней. Были определены кривые роста и соответствующие скоростные константы для отдельных родов микроорганизмов, с наблюдением всех условий опытов.

Из результатов видно, что на соотношение между временем роста и температурой, которым, в первую очередь определяется количество микроорганизмов в среде, оказывает влияние состав, в особенности pH, равно как и содержание питательных и охраняющих материй среды. Оказалось, что *E. coli* не размножаются в течение 5 дней, когда проводились наблюдения, ни при температуре ниже 10 Ц, а в среде физиологически менее пригодной, ни при 10 Ц. Стафилококки росли, и в этих условиях, и на много быстрее, чем эшерихии. Психрофилы размножались интенсивно даже при температуре -2 Ц, причем у *Achr. liquefaciens* было, в мясистой среде, время произрастания около 18 часов, у *Ps. fluorescens*, в тех же условиях, было, приблизительно, на 10 % продолжительнее. Неспецифицированная, точнее, комплексная микрофлора росла в мезофильных условиях так же, как и чистые культуры стафилококков, но ее рост в холоде свидетельствует о том, что она содержит и психрофильную составную часть.

Из вышеизложенных результатов следует, что при хранении легкопортящихся продуктов, в холодильных заводах, более продолжительное время, чем один день, следует понизить температуру ниже 5 Ц., притом не только в помещении, где хранятся продукты, и на их поверхности, но и внутри — в ядре. Такая температура в состоянии охранить продукты от порчи в течение 5 дней, более продолжительный срок хранения уже требует замораживания. Обработкой состава пищевых продуктов, в особенности понижением их pH, можно повысить тормозящее действие холода на микроорганизмы. При таких условиях некоторые роды бактерий, как например *E. coli* прямо отмирают.

ÜBER DAS BAKTERIENWACHSTUM IN LEBENSMITTELN BEI KÄLTE IN ABHÄNGIGKEIT VOM TEMPERATUREINFLUSS UND LAGERUNGSDAUER

(Beitrag zum TTT-Forschungsprogramm)

Zusammenfassung

Das Wachstum mesophiler Bakterienarten *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli*, psychrophiler Bakterienarten *Achromobacter liquefaciens* und *Pseudomonas fluorescens*, sowie auch der komplexen Mikroflora isoliert aus Lebensmitteln wurde bei optimaler Temperatur und bei Kälte, d. h. bei 5°, 2°, 0°, -2°C untersucht. Als Medium dienten drei Typen steriler Versuchsgesetze, und zwar Gemüsepüree (pH auf 5,5 eingestellt), Fleischhaschee (pH 6) und ein mehliger Pudding (pH 7). Die Medien wurden mit einer Suspension der Testorganismen auf standard Weise beimpft und im Laufe von 5 Tagen quantitativ verfolgt. Die Wachstumskurven und die zuständigen Geschwindigkeitskonstanten der einzelnen Mikrobenarten wurden unter allen Versuchsbedingungen festgestellt.

Die Ergebnisse zeigten darüber, dass auf die Relation zwischen Wachstumszeit und Temperatur, welche in erster Reihe die Menge der im Medium vorhandenen Mikroben bestimmen die Zusammensetzung, besonders das pH, sowie auch der Inhalt der Nähr- und Schutzstoffe des Substrats von Einfluss ist. Es wurde festgestellt, dass sich *Escherichia coli* in der verfolgten Zeitspanne von 5 Tagen nicht mehr vermehrt bei Temperaturen unter 10°C in physiologisch weniger entsprechenden Medium sogar noch bei dieser Temperatur. Die *Staphylococci* wuchsen auch unter diesen Bedingungen und in jedem Falle schneller als *Escherichia coli*. Die verfolgten Psychrophilen vermehrten sich intensiv sogar noch bei -2°C, wobei *Achromobacter liquefaciens* im fleischhaltigen Medium eine Generationszeit von ca 18 Stunden aufweist, *Pseudomonas fluorescens* wies unter denselben Bedingungen um eine 10 % längere Generationszeit auf. Die nicht spezifizierten, bzw. komplexe Mikroflora wuchs unter mesophilen Bedingungen auf eine ähnliche Weise wie die reinen Kulturen der *Staphylococci*, aber ihr Wachstum unter Kälteeinfluss wies darauf hin, dass sie auch psychrophile Komponente enthält.

Aus den Ergebnissen ist zu ersehen, dass man bei der Aufbewahrung leichtverderblicher Lebensmittel durch Kühlung auf längere Zeit als einen Tag, die Temperatur auf < 5°C herabsetzen muss, und zwar nicht nur in der Umgebung und an der Oberfläche der Lebensmittel, aber auch in deren Tiefe. Diese Temperatur reicht allerdings im Allgemeinen nur für eine Dauer von 5 Tagen, eine längere Lagerung erfordert Gefrieren. Durch Regelung der Lebensmittelzusammensetzung, besonders durch die Herabsetzung des pH, kann man die hemmende Wirkung der Kälte auf die Mikroben steigern. Unter diesen Bedingungen kommt es auch bei einigen Bakterienarten, wie z. B. *Escherichia coli* zu deren stärkerem Absterben.

Literatúra

1. Angelotti R., Foter M. J., Lewis K. H., Time — temperature effects on *Salmonella* and *Staphylococci*. I. Behavior in refrigerated foods. A. J. P. H. 51, 76, 1961.
2. Arpai J., Sledovanie aktivity proteolytických enzýmů u mikroorganizmů izolovaných z mrazeného masa. Chem. zvesti 14, 148, 1960.
3. Arpai J., Vplyv zmrazovacej teploty na kvótu odumierania a fyziologického poškodenia mikroorganizmů. Biológia 14, 31, 1961a.
4. Arpai J., Kälteeinfluss und Peptidase — Aktivität von Bakterien. Experientia 17, 170, 1961b.
5. Arpai J., Zur Problematik der baktericiden Wirkung von Antibiotica bei tiefen Temperaturen. Arch. f. Mikrob. 39, 159, 1961c.
6. Arpai J., Selekcja mikroorganizmů nízkymi teplotami. Referát na konferencii SAV v Smoleniciach v máji 1961d.
7. Arpai J., Bánhegyiová M., Prieskum mikrobiologických pomerů mrazeného masa. Prům. potravin 10, 439, 1959.

8. Arpai J., Bánhegyiová M., O typičnosti mikroflóry mrazeného mäsa. Prům. potravin 11, 212, 1960.
9. Arpai J., Behúň M., Duchoň T., Odras hygienického režimu na biochemické procesy v mrazenom mäse. Čs. hygiena 5, 429, 1960.
10. Arpai J., Janotková O., Hodnotenie mikrobiologickej čistoty zeleninových pretlakov. Prům. potravin 9, 30, 1958.
11. Bäckström M., Technika chlazení. SNTL, Praha 1959.
12. Black L. C., Lewis M. N., Effect on bacterial growth of various methods of cooling cooked foods. J. Am. Dietet. A. 24, 399, 1948.
13. Fitzgerald G. A., Are frozen foods a public health problem? A. J. P. H. 37, 695, 1947.
14. Gorill R. H., McNeil E. M., The effect of cold dilution on the viable count of *Ps. pyocyanea*. Jour. Gen. Microb. 22, 437, 1960.
15. Miller W. A., Smull M. L., Efficiency of cooling practices in preventing growth of micrococci. J. Am. Dietet. A. 31, 469, 1955.
16. Prescott S. C., Geer L. P., Observation on food poisoning organisms under množenie i biochimičeskuju aktivnost bakterij *Achromobacter* sp. Chladiťnaja tehnika 5, 44, 1958.
17. Plank R., Handbuch der Kältetechnik. Die Anwendung der Kälte in der Lebensmittelindustrie. Springer Verlag, Berlin 1960.
18. Prescott S. C., Geer L. P., Observation on food poisoning organismus under refrigeration conditions. Refrig. Eng. 32, 211, 1935.