

Vplyv aktivity vody (a_v) na prežívanie niektorých salmonel

LUBOMÍR VALÍK—FRIDRICH GÖRNER

Súhrn. Skúmal vplyv a_v tryptón-sójového bujónu nastavených s prídavkami NaCl na prežívanie salmonel: *S. enteritidis*, fagotyp 8, *S. bareilly* (kmene 1, 2, 160, 195), *S. infantis*, *S. virchow* a *Salmonella* sp. zo skup. C₁.

Salmonely najdlhšie prežívali v bujónoch s a_v hodnotami 0,924 a 0,933. S klesajúcimi a_v hodnotami 0,924 po 0,883 časy prežívania podľa očakávania klesali. Oproti očakávaniu, pri najvyššej a_v 0,943, čas prežívania opäť klesal.

Salmonely skupiny enteritidis (*S. enteritidis* a ďalšie druhy a sérovary) sú obávanými choroboplodnými (toxinogénnymi) baktériami prenosnými požívatinami zo zvierat na ľudí. Preto sa im v potravinárskej technológii a v potravinárskej mikrobiológii z hľadiska prevencie vzniku do požívatín a zabránenia rastu v nich venuje veľká pozornosť [1, 2].

Je všeobecne známe, že s klesajúcou aktivitou vody prostredia prestávajú mikroorganizmy postupne metabolizovať, rásť a podľa ich individuálnych vlastností, kratšie alebo dlhšie prežívajú [3—5]. Táto vlastnosť sa využíva pri konzervácii požívatín, jednak sušením, jednak prídavkom látok zvyšujúcich ich osmotický tlak a znižujúcich ich a_v hodnotu (cukry, soľ) [6]. Experimentálne sa vypracoval rad minimálnych a_v hodnôt a ich kombinácií s minimálnymi koncentráciami synergicky pôsobiacich chemických konzervačných látok a iných mikrobistaticky pôsobiacich parametrov požívatín [7, 8]. Tieto limity tvoria hranice medzi rastom a inhibíciou rastu potravinársky relevantných mikroorganizmov v požívatínach [9, 10]. Pri chemických konzervačných látkach klesá mikrobicídny účinok s klesaním ich koncentrácie v prostredí [11]. Pri aktivite vody, ako mikrobistatického parametra sme taktiež zvyknutí na údaje minimálnych hodnôt, a pri vysokých hodnotách sa spravidla neuvažuje s ich negatívnym vply-

Ing. Lubomír Valík, prof. Ing. dr. Fridrich Görner, DrSc., Katedra mlieka, tukov a hygieny požívatín, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

vom. Naproti tomu pri osmotickom tlaku, určujúcom v podstatnej miere hodnotu a_v prostredia, poznáme z mikrobiologického hľadiska aj jeho optimálnu hodnotu: jeho minimálna a maximálna hodnota pôsobí na mikroorganizmy vo všeobecnosti inhibične [12].

Skúmali sme dynamiku prežívania niektorých salmonel skupiny *enteritidis* v tryptón-sójových bujónoch s upravenými a_v hodnotami. Pozornosť sme pri tom zamerali na vysoké a_v hodnoty.

Materiál a metódy

Pracovali sme so salmonelami, ktoré pracovníci ŠVÚ Brno, ŠVÚ Hradec Králové a KHS Brno izolovali z potravinového materiálu (sušené vajcia a sušené vaječné hmoty). Tieto nám poskytol MVDr. P. Mikuláš (ŠVÚ Brno). Boli to *S. enteritidis*, fagotyp 8, *S. bareilly* (kmene 1, 2, 160, 195), *S. infantis*, *S. virchow* a *Salmonella* sp. zo skup. C₁.

Pestovali sme ich v tryptón-sójovom bujóne (Imuna) pri 25 a 37°C a na pokusy sme použili ich 24 h kultúry. V pokusoch sme do bujónu naočkovali toľko kultúry, aby v ňom bola počiatočná koncentrácia inokula $1 \cdot 10^6$ KTJ \cdot ml⁻¹. Koncentráciu sme kontrolovali zriedovacou metódou na dvoch paralelných Petriho miskách s agarom briliantovou zeleňou a fenolovou červenou (Imuna) po 24 inkubácii pri 25°C.

Prežitie alebo neprežitie salmonel inkubačných teplotách v bujónoch s príslušnými a_v hodnotami sme v stanovených časových intervaloch zisťovali taktiež zriedovacou metódou, pričom s ich znižujúcou sa koncentráciou sme použili na očkovanie vždy nižšie zriedenie, až ku koncu sme očkovali 2 ml bujónov po 0,5 ml na štyri Petriho misky. Keď na nich za 48 h nenarástli viditeľné kolónie, považovali sme salmonely v bujóne za prakticky odumreté. Prežívanie sa sledovalo v ďalej diskutovanom prípade do 67 dní v intervaloch: 10, 17, 23, 37, 44, 53, 62 a 67 dní.

Použitý tryptón-sójový bujón mal a_v hodnotu $0,995 \pm 0,002$ a_v hodnoty pokusných bujónov: 0,943; 0,933; 0,924; 0,913; 0,903; 0,893 a 0,883 sme upravili prídavkom primeraného množstva NaCl. Nastavené a_v hodnoty bujónov sme kontrolovali stanovením ich teploty tuhnutia a prepočítali sme ich na a_v hodnotu podľa vzťahu [13]:

$$2,303 \log a_v = -0,0097 (t_0 - t_1),$$

kde t_0 je teplota tuhnutia čistej vody a t_1 je teplota tuhnutia príslušného bujónu. Tieto teploty sme stanovovali Beckmanovým teplomerom deleným po 0,01°. pH hodnoty bujónov boli v rozmedzí 6,8—7,0.

Výsledky a diskusia

V pokuse, ktorého výsledky sú zhrnuté v tab. 1 a na obr. 1, sa skúmalo prežívanie *Salmonella bereilly* (kmeň 2) v tryptón-sójovom bujóne s rozmedzím a_v hodnôt 0,943 až 0,883 za 67 dní pri 25 °C. Tieto a_v hodnoty sú pre salmonely za daných experimentálnych podmienok v oblasti ich odumierania. Optimálne a_v hodnoty pre rast a metabolizmus salmonel udávajú napr. Troller a Christian 0,995 [14].

Hodnoty log KTJ . ml⁻¹ salmonel predovšetkým potvrdili, že s klesajúcimi a_v hodnotami (od a_v 0,933 a 0,924), sa čas prežívania *S. bareilly* (kmeň 2) skracoval. Pri a_v hodnotách 0,933 a 0,924 boli časy prežívania najdlhšie. Túto skutočnosť možno pozorovať na základe počtov salmonel v 44. deň ich stanovenia. Pri a_v hodnote 0,933 bol log KTJ . ml⁻¹ 3,88, pri a_v hodnote 0,924 bol 3,69 a pri a_v hodnote 0,913 bol 1,15. Pri ďalších nižších a_v hodnotách boli časy prežívania ešte kratšie. Pri a_v hodnote 0,903 neboli salmonely dokázané v 2ml bujónu už o 37 dní, pri a_v hodnote 0,893 o 30 dní a pri a_v hodnote 0,883 už o 10 dní. Prežívanie bolo najlepšie merateľné a podľa vykonaných pokusov najdlhšie pri a_v hodnote 0,924. Zhodný trend možno v tabuľke pozorovať aj pri menšom počte dní stanovenia salmonel. Od a_v hodnôt 0,933 a 0,924 smerom k nižším hodnotám

Tabuľka 1. Obsah *Salmonella bareilly* (kmeň 2) v tryptón-sójovom bujóne s upravenou a_v hodnotou v postupujúcich dňoch inkubácie pri 25 °C

Table 1. *Salmonella bareilly* content (strain 2) in tryptone-soya broth with adjusted a_w value during the proceeding days of incubation at 25 °C

Čas ¹ [d]	Aktivita vody ² (a_v) [log KTJ . ml ⁻¹]						
	0,883	0,893	0,903	0,913	0,924	0,933	0,943
0	6,08	6,08	6,08	6,08	6,08	6,08	6,08
10	0/2ml*	3,47	5,03	5,81	5,49	5,83	5,31
17		1,95	3,04	4,34	4,81	5,47	4,48
23		0,30	2,40	4,29	4,64	4,63	4,21
30		0/2ml*	1,30	3,32	4,58	4,45	3,96
37			0/2m*	2,90	4,32	—	3,03
44				1,15	3,69	3,88	2,54
53				0,60	3,62	—	—
62				0/2ml*	3,47	—	<1,0
67					2,65	—	1,32

* Na štyroch Petriho miskách po 0,5 ml nezriedeného bujónu za 48 h pri 25 °C nevyrástli žiadne kolónie;

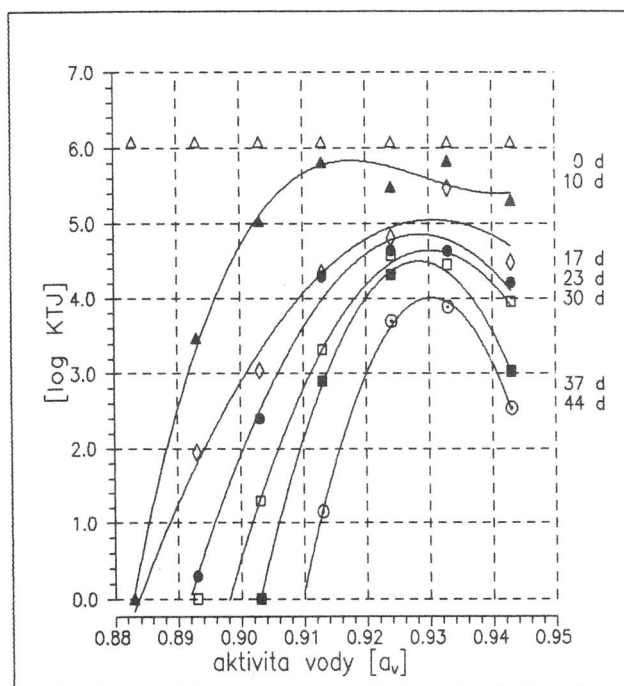
No colonies were grown in four Petri dishes containing 0.5 ml of undiluted broth during 48 h at 25 °C .

¹ Time; ² Water activity.

možno pri každom dni vyšetrenia pozorovať nižší počet salmonel vyjadrený v $\log \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Medzi a_v hodnotami 0,933 a 0,924 na jednej strane a a_v hodnotou vyššou ako 0,943 na strane druhej, možno v tabuľke pozorovať opačný trend. Pri všetkých výsledkoch počtu salmonel v ml bujónu v jednotlivých dňoch sme zaznamenali pri najvyššej a_v hodnote 0,943 nižšie počty salmonel ako pri najbližších nižších a_v hodnotách 0,933 a 0,924.

Pre lepšiu názornosť sme hodnoty $\log \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$ salmonel v závislosti od a_v hodnoty tryptón-sójového bujónu a času vyšetrenia naniesli do grafu (obr. 1). Jednotlivé čiary zodpovedajú $\log \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$ salmonel v bujónoch s odlišnými a_v hodnotami v rovnaký deň stanovenia. Na obrázku vidieť, že najväčší počet salmonel bol stanovený, nezávisle od dňa vyšetrenia, pri a_v hodnotách bujónov 0,933 a 0,924. S klesajúcimi a_v hodnotami bujónov, podľa očakávania, sa čas prežívania salmonel skracoval. Oproti očakávaniu, pri vyššej a_v hodnote bujónu 0,943, čas prežívania salmonel opäť klesal.



Obr. 1. Prežívanie *Salmonella bareilly* (kmeň 2) v tryptón-sójovom bujóne v závislosti od jeho aktivity vody (a_v) pri 25°C.

Fig. 1. *Salmonella bareilly* (strain 2) survival in tryptone-soya broth in dependence on its water activity (a_w) at 25°C. x-axis — water activity, y-axis — logarithm of inoculum concentration.

Na overenie, či je úkaz kratšieho prežívania salmonel v tryptón-sójovom bujóne s vyššími a_v hodnotami ako 0,933 až 0,924 všeobecný alebo platný iba v tomto prípade študovanej salmonely *S. bareilly* (kmeň 2), urobili sme podobné pokusy s ďalšími salmonelami: *S. bareilly* (kmeň 1), *S. enteritidis*, fagotyp 8, *S. virchow*, *S. infantis*, *S. bareilly* (kmeň 160), *S. bareilly* (kmeň 195) a *Salmonella* sp. zo skup. C₁. U všetkých týchto salmonel sa tento jav potvrdil. Optimálne a_v hodnoty pre prežívanie týchto salmonel boli podobné ako u *S. bareilly* (kmeň 2) a síce v rozmedzí 0,924 až 0,937, čo je nižšie ako ich minimálne hodnoty a_v 0,953 až 0,957.

Skúmanie príčin tohto javu sme sami ešte nesledovali. V písomníctve sme sa stretli s vplyvom obsahu NaCl v prostredí na rast salmonel z hľadiska skladovania potravín pri chladiarenských teplotách. Gibsonová a kol. [15] pozorovali pri 10 °C a pH prostredia 6,2 vplyv obsahu NaCl v rozmedzí 4,5—0,5 % NaCl na generačný čas zmiešaného inokula salmonel *S. thompson*, *S. stanley* a *S. infantis*. Zistili klesanie generačného času s klesajúcim obsahom NaCl po hodnotu 2,5 %, ďalším jeho narastaním po obsah NaCl 0,5 %. V ďalšej práci s rovnakými salmonelami pri 10 °C a pH prostredia 7,0 tento jav potvrdili Bratchell a kol. [16]. Podobný úkaz pozorovali u *Staphylococcus xylosus* McMeekin a kol. [17]. Generačné časy tohto organizmu v bujóne pri 28 °C boli pri a_v hodnote 0,996 dlhšie (31,3 min) ako pri $a_v = 0,976$ (27,1 min). a_v hodnoty bujónov boli nastavené prídavkami NaCl.

Obsah NaCl má v prostredí významný vplyv na jeho a_v hodnotu. Preto možno porovnať naše pozorovania zamerané na skúmanie a_v hodnoty prostredia na prežívanie salmonel, v našom prípade pri 25 °C, s uvedenými výsledkami. Nemožno však jednoznačne tvrdiť, či je tento jav spojený s obsahom NaCl v prostredí alebo s jeho a_v hodnotou. Pochybujeme o tom, preto, lebo rast mikroorganizmov v rovnakom prostredí s a_v hodnotou upravenou prídavkom NaCl a rovnakou hodnotou nastavenou s prídavkom glukózy alebo inej vhodnej látky nie je rovnaký [18].

Literatúra

1. SCOTT, V. N., J. Food Protect., 52, 1989, s. 431.
2. D'AOUST, J.—Y., Int. J. Food Microbiol., 13, 1991, s. 207.
3. LENOVICH, L. M. In: Water Activity: Theory and Applications to Food. Rockland, L. B.—Beuchat, L. R. (Eds). New York, Marcel Dekker, Inc. 1987, s. 119.
4. TROLLER, J. A., In: Water Activity: Theory and Applications to Food. Rockland, L. B.—Beuchat, L. R. (Eds). New York, Marcel Dekker, Inc. 1987, s. 101.
5. HOCKING, A. D., Microbiol. Sci., 5, 1988, s. 280.
6. BONE, D. P. In: Water Activity: Theory and Applications to Food. Rockland, L. B.—Beuchat, L. R. (Eds). New York, Marcel Dekker, Inc. 1987, s. 369.

7. LEISTNER, L. In: Water Activity: Theory and Applications to Food. Rockland, L. B.—Beuchat, L. R. (Eds). New York, Marcel Dekker, Inc. 1987, s. 295.
8. TOMANCOVÁ, I.—STEINHAUSER, L.—MATYÁŠ, Z., Prům. Potr., 41, 1990, s. 183.
9. GIBSON, A. M.—ROBERTS, T. A., Int. J. Food Microbiol., 3, 1986, s. 183.
10. CORRY, J. E. L., In: Food and Beverage Mycology. Beuchat, L. R., (Ed.). Westport, Avi Publ. Co. 1988, s. 45.
11. TROLLER, J. A., Food Technol., 34, 1980, s. 76.
12. LARSEN, P. I. a kol., Arch. Microbiol., 147, 1987, s. 1.
13. CHEN, C. S., Lebensm.-Wiss. Technol., 21, 1988, s. 256.
14. TROLLER, J. A.—CHRISTIAN, J. H. B., In: Water Activity and Food. New York, Academic Press, 1978, s. 132.
15. GIBSON, A. M. a kol. Int. J. Food Microbiol., 6, 1988, s. 155.
16. BRATCHELL, N. a kol., Int. J. Food Microbiol., 8, 1989, s. 47.
17. McMEEKIN, T. A. a kol., J. Appl. Bacteriol., 62, 1987, s. 543.
18. SPERBER, W. H., J. Food Protect., 46, 1983, s. 142.

Do redakcie došlo 5. 12. 1991

Effect of water activity (a_w) on the survival of some salmonellae

Summary

Effect of a_w values of tryptone-soya broth set up with additions of NaCl on the survival of salmonellae *S. enteritidis*, fagotype 8, *S. bareilly* (strains 1, 2, 160, 195), *S. infantis*, *S. virchow* and *S. salmonella* sp. from the group C₁ has been investigated.

Salmonellae survived for the longest time in broths with a_w values of 0.924 and 0.933. With descending a_w values from 0.924 to 0.883, survival times were decreasing in agreement with expectation. Against this, at the highest a_w value of 0.943, survival time, contrary to the expectations, showed again decreasing tendency.

Влияние активитета воды (a_w) на переживание некоторых салмонел

Изучалось влияние a_w показателей триптонсоевого бульена с добавкой NaCl на переживание салмонел *S. enteritidis* фаготип 8, *S. bareilly* (штаммы 1, 2, 160, 195), *S. infantis*, *S. virchow*, *Salmonella* sp. из группы C₁.

Салмонелы больше всего переживали в бульенах с a_w показателем 0,924 и 0,933. С понижающимся a_w показателем с 0,924 по 0,883 время переживания по ожиданию понималось. Против этого при высшем a_w показателе 0,943 против ожиданию время переживания снова понижалось.