

## Porovnávanie živných pôd na určenie kvasiniek a plesní v syroch

JARMILA PREKOPPOVÁ

**Súhrn.** V práci sa uvádzajú výsledky testovania živných pôd (sladinkový agar, agar s oxytetracyklínom, agar s chloramfenikolom) na určenie kvasiniek a plesní v syroch. Zo zistených výsledkov vyplýva, že obidve pôdy s antibiotikami možno pokladať za rovnocenné a v porovnaní so sladinkovým agarom sú selektívnejšie a majú vyššiu záchytnosť. Z praktického hľadiska je výhodnejší agar s chloramfenikolom, pretože príprava a manipulácia s ním je jednoduchšia, antibiotikum možno k nemu pridávať už pri príprave pôdy.

Pri mnohých mliečnych výrobkoch sa v rámci mikrobiologického vyšetrenia vyžaduje aj vyšetrenie na prítomnosť kvasiniek a plesní, ktoré môžu svojou proteolytickou a lipolytickou aktivitou najmä pri čerstvých syroch a kyslých mliečnych výrobkoch spôsobiť zhoršenie kvality. Pri niektorých druhoch syrov (napr. ovčí hrudkový syr, bryndza a iné) sú kvasinky súčasťou povrchovej mikroflóry a zúčastňujú sa na sekundárnom zrení, a tým aj na tvorbe chuťových variácií toho-ktorého syra.

Určenie počtu kvasiniek a plesní sa robí podľa ČSN 56 0100 a 57 0101 na sladinkovom alebo Sabouraudovom agare pri pH 5,5—5,0. Uvedené živné pôdy však nie sú dostatočne selektívne a môžu na nich rásť aj iné mikroorganizmy, ktoré v mliečnych výrobkoch prevládajú. Hľadali sme preto živnú pôdu, ktorá by bola vhodnejšia na použitie v mliekárskom priemysle.

Pri testovaní piatich živných pôd (Sabouraudov agar, sladinkový agar, zemniakovo-dextrózový agar, Buffered Yeast agar a agar s oxytetracyklínom) sa ako najvhodnejší javil agar s oxytetracyklínom. Uvedená živná pôda bola zo všetkých pôd najselektívnejšia, rast kvasiniek aj plesní bol na nej veľmi dobrý a zistené množstvo kvasiniek bolo preukazne vyššie ako na pôdach uvádzaných ČSN [1,2]. Nevýhodou uvedenej živnej pôdy je to, že roztok oxytetra-

cyklínu sa musí pripravovať denne čerstvý a pridávať do pôdy tesne pred jej použitím, čo z praktického hľadiska nie je najvhodnejšie.

Preto sme sa v ďalšej práci zamerali na sledovanie rastu kvasiniek a plesní na agare s chloramfenikolom, ktorý sme porovnávali s oxytetracyklínovým agarom ako najlepším z testovaných živných pôd a so sladinkovým agarom, ktorý sa bežne používa v mliekárskych laboratóriách.

### Experimentálna časť

Sledovanie sa uskutočnilo v bryndzi a surovinách používaných na jej výrobu, t. j. v ovčom a kravskom hrudkovom syre. Uvedené druhy syrov sme vybrali preto, lebo pri nich sa kvasinky a plesne *Geotrichum* sp. bežne vyskytujú a okrem toho je v týchto syroch v hojnom počte zastúpená aj iná mikoflóra (predovšetkým kyslomliečne streptokoky a laktobacily).

Počet kvasiniek a plesní sa určoval v 30 vzorkách bryndze a 43 vzorkách syrov. Vzorky sa uskladňovali v chladničke pri teplote  $+5^{\circ}\text{C}$  a spracovali sa do 8 hodín po prijatí.

Na určenie počtu kvasiniek a plesní sa použili tieto živné pôdy:

#### 1. kvasnično-glukózový agar s oxytetracyklínom

kvasničný extrakt	5 g
glukóza	20 g
agar	10 g
destilovaná voda	1000 ml
pH po sterilizácii	$6,6 \pm 0,1$
Sterilizácia 15 min pri $120^{\circ}\text{C}$	

Pred použitím treba k rozpustenej živnej pôde, ochladenej na  $45^{\circ}\text{C}$ , pridať 10 ml 0,1 % čerstvo pripraveného sterilného roztoku oxytetracyklínu na 90 ml pôdy.

#### 2. kvasnično-glukózový agar s chloramfenikolom

kvasničný extrakt	5 g
glukóza	20 g
agar	10 g
chloramfenikol	100 mg
destilovaná voda	1000 ml
pH po sterilizácii	$6,6 \pm 0,1$
Sterilizácia 15 min pri $120^{\circ}\text{C}$	

3. sladinkový agar (Imuna, Šarišské Michaľany).

Vzorky sa inkulovali 4 dni pri teplote 25 °C. Narastené kolónie sa kontrolovali mikroskopicky.

Zistené výsledky sa vyhodnotili matematicko-štatisticky. Rozdiely medzi testovanými pôdami sa zistili *t*-tesom pre párované hodnoty [3].

### Výsledky a diskusia

Ako vidieť z tabuľky 1, najvyššie priemerné množstvo kvasiniek v bryndzi a syroch sa zistilo na agare s oxytetracyklínom. O niečo nižšie zistené množstvá boli na agare s chloramfenikolom a najnižšie na sladinkovom agare, pričom

Tabuľka 1. Priemerné množstvá kvasiniek a plesní *Geotrichum* sp. zistené v bryndzi a syroch  
Table 1. Average amount of yeasts and moulds *Geotrichum* sp. determined in sheep (Liptauer) cheese and other kinds of cheese

Druh výrobku <sup>1</sup>	Počet meraní <sup>4</sup>	Zistené množstvo kvasiniek a plesní. g <sup>-15</sup> (geometrický priemer) <sup>5</sup>					
		agar s oxytetracyklínom <sup>6</sup>		agar s chloramfenikolom <sup>7</sup>		sladinkový agar <sup>8</sup>	
		kvasinky <sup>9</sup>	<i>Geotrichum</i> sp.	kvasinky <sup>9</sup>	<i>Geotrichum</i> sp.	kvasinky <sup>9</sup>	<i>Geotrichum</i> sp.
bryndza <sup>2</sup>	30	1 719 800	90 430	1 641 100	90 570	1 189 700	85 130
syry <sup>3</sup>	43	24 600	2 230	23 560	2 240	16 730	1 880

<sup>1</sup>Kind of cheese; <sup>2</sup>Sheep (Liptauer) cheese; <sup>3</sup>Cheese; <sup>4</sup>Number of measurements; <sup>5</sup>Amount of determined yeasts and moulds. g<sup>-1</sup> (geometrical mean); <sup>6</sup>Agar with oxytetracycline; <sup>7</sup>Agar with chloramphenicol; <sup>8</sup>Malt agar; <sup>9</sup>Yeasts.

v bryndzi dosahovali 69,2 % a v syroch 67,8 % množstva zisteného na agare s oxytetracyklínom.

Množstvo plesní *Geotrichum* sp. bolo najvyššie na agare s chloramfenikolom, o niečo nižšie na agare s oxytetracyklínom a najnižšie, rovnako ako pri kvasinách, na sladinkovom agare. Pritom v bryndzi dosahovali 94,1 % a v syroch 84,3 % množstva zisteného na pôde s chloramfenikolom.

Pri štatistickom vyhodnotení jednotlivých dvojíc pôd *t*-testom pre párované hodnoty (tab. 2, 3) sa zistili štatisticky významné rozdiely ( $\alpha = 0,05$ ) medzi pôdou s oxytetracyklínom a sladinkovým agarom, rovnako ako medzi pôdou s chloramfenikolom a sladinkovým agarom, to znamená, že sladinkový agar bol preukazne horší ako obidve pôdy s antibiotikami. Štatisticky nevýznamné rozdiely sa zistili medzi obidvoma pôdami s antibiotikami, pričom o niečo lepšie výsledky dávala pôda s oxytetracyklínom.

Tabuľka 2. Matematicko-štatistické vyhodnotenie významnosti rozdielov priemerov hodnôt množstva kvasiniek na testovaných živných pôdach (*t*-test)  
 Table 2. Mathematical and statistical significance evaluation of difference in average amounts of yeasts in the studied nutrient media (*t*-test)

Porovnávané živné pôdy <sup>1</sup>	Bryndza <sup>5</sup> ( <i>n</i> = 30)	Syry <sup>6</sup> ( <i>n</i> = 43)
sladinkový agar — agar s oxytetracyklínom <sup>2</sup>	3,337	6,054
sladinkový agar — agar s chloramfenikolom <sup>3</sup>	3,835	12,641
agar s oxytetracyklínom — agar s chloramfenikolom <sup>4</sup>	0,837	0,828
	$t_{0,05} = 2,042$	$t_{0,05} = 2,021$

<sup>1</sup>The compared nutrient media; <sup>2</sup>Malt agar — agar with oxytetracycline; <sup>3</sup>Malt agar — agar with chloramphenicol; <sup>4</sup>Agar with oxytetracycline — agar with chloramphenicol; <sup>5</sup>Sheep (Liptauer) cheese; <sup>6</sup>Other kinds of cheese.

Tabuľka 3. Matematicko-štatistické vyhodnotenie významnosti rozdielov priemerov množstva plesní *Geotrichum* sp. na testovaných živných pôdach (*t*-test)  
 Table 3. Mathematical and statistical significance evaluation of differences in average amounts of *Geotrichum* sp. in the studied nutrient media (*t*-test)

Porovnávané živné pôdy <sup>1</sup>	Bryndza <sup>5</sup> ( <i>n</i> = 30)	Syry <sup>6</sup> ( <i>n</i> = 43)
sladinkový agar — agar s oxytetracyklínom <sup>2</sup>	9,004	2,042
sladinkový agar — agar s chloramfenikolom <sup>3</sup>	5,839	2,032
agar s oxytetracyklínom — agar s chloramfenikolom <sup>4</sup>	0,139	0,051
	$t_{0,05} = 2,042$	$t_{0,05} = 2,021$

<sup>1</sup>—<sup>6</sup>See Table 2.

Pri porovnaní všetkých troch živných pôd selektívnejšie boli pôdy s antibiotikami ako sladinkový agar. Taktiež zistené množstvá kvasiniek a plesní *Geotrichum* sp. boli vyššie na oboch pôdach s antibiotikami ako na sladinkovom agare.

Pri celkovom zhodnotení dosiahnutých výsledkov možno povedať, že obidve živné pôdy s antibiotikami, agar s oxytetracyklínom i agar s chloramfenikolom sú rovnocenné a možno ich úspešne použiť na určenie množstva kvasiniek v syroch. V porovnaní so sladinkovým agarom sú selektívnejšie a aj množstvá na nich zistené sú vyššie. Rovnako sú uvedené živné pôdy vhodnejšie aj na určenie množstva plesní *Geotrichum* sp. ako sladinkový agar. Pritom kolónie kvasiniek a plesní sa na uvedených živných pôdach veľmi dobre vyvíjali. Ako účinnejšie antibiotikum sa javil chloramfenikol.

Z praktického hľadiska sa výhodnejšou javí pôda s chloramfenikolom, pretože uvedené antibiotikum je rezistentné proti teplu a môže sa pridávať do pôdy pri jej príprave, kým roztok oxytetracyklínu sa musí pripravovať denne čerstvý a pridávať do pôdy tesne pred jej použitím, čo by komplikovalo používanie tejto pôdy v praxi. Taktiež množstvá kvasiniek zistené na tejto pôde boli vyššie v porovnaní so sladinkovým agarom, pričom rozdiely boli štatisticky významné a oproti pôde s oxytetracyklínom, i keď zistené množstvá boli o niečo nižšie, rozdiely boli štatisticky nevýznamné. Množstvo plesní *Geotrichum* sp. bolo prakticky rovnaké na obidvoch živných pôdach. Preto odporúčame namiesto doteraz používaného sladinkového agaru na určenie kvasiniek v syroch používať kvasnično-glukózový agar s chloramfenikolom.

### Literatúra

1. ČSN 56 0100.
2. ČSN 57 0101.
3. REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace v technice. Praha, SNTL 1970.

### Сравнение питательных сред для определения дрожжей и плесеней в сырах

#### Резюме

В работе приводятся результаты тестирования питательных сред (сусляный агар, агар с окситетрациклином, агар с хлорамфениколом) для определения дрожжей и плесеней в сырах.

Как следует из полученных результатов, обе среды с антибиотиками можно считать равнозначными и по сравнению с сусляным агаром обладающими большей селективностью и большей захватывающей способностью.

С практической точки зрения более выгоден агар с хлорамфениколом, поскольку его подготовка и манипуляция с ним проще, так как антибиотик можно добавлять в него еще в процессе подготовки среды.

### Comparison of nutrient media to determine yeasts and moulds in cheese

#### Summary

In the work results of testing nutrient media (malt agar, agar with oxytetracycline and agar with chloramphenicol) to determine yeasts and moulds in cheese are presented. It has been found that both the antibiotic cultures are to be considered equivalent, and compared with malt agar they are more selective and have a greater absorption. From the practical point of view, agar with chloramphenicol is more convenient, because it is simple to prepare and manipulate, and the antibiotic can be added to it already while preparing the nutrient medium.