

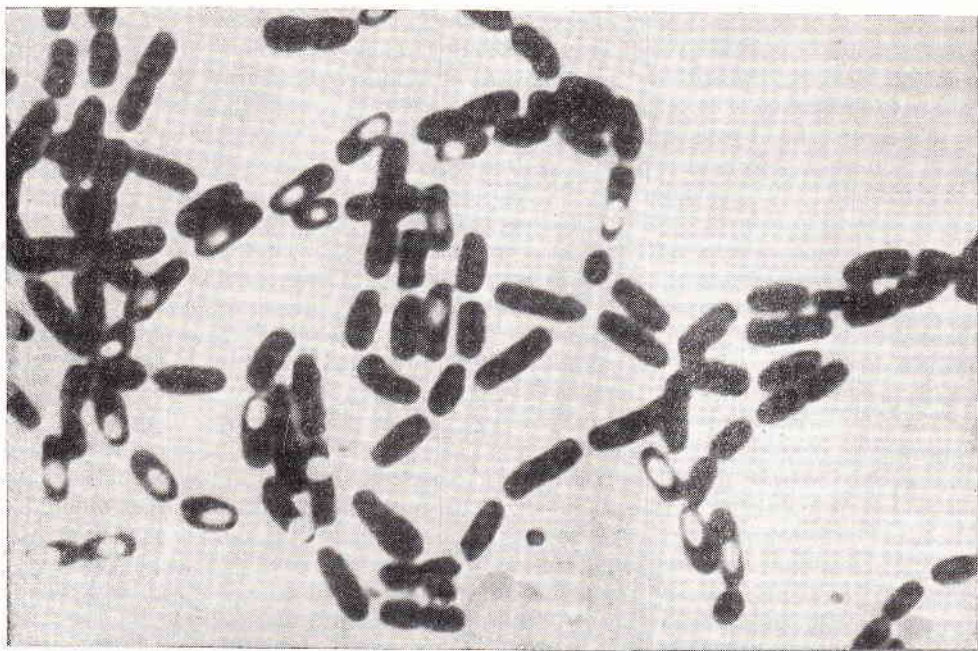
Sporuláty — hlavný mikrobiologický problém hotových jedál a polotovarov

J. ARPAI, M. BÁNHEGYIOVÁ A M. GRÓFOVÁ

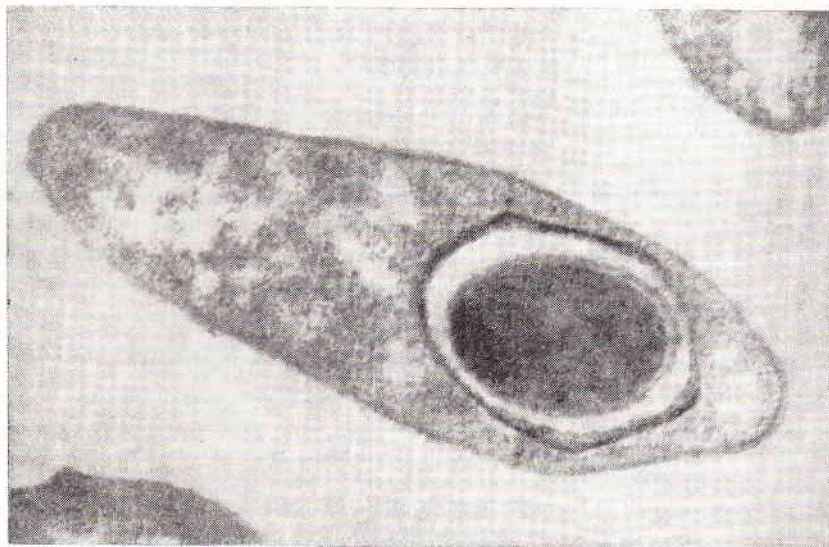
ÚVÚPP, pobočka, Mikrobiologické oddelenie, Bratislava

Medzi mnohými problémami, s ktorými sa stretáva výroba hotových jedál a polotovarov zaujme zabezpečenie ich mikrobiologickej čistoty dozaista nie posledné miesto, i keď sa s touto otázkou zaoberáme v poslednom referáte tejto konferencie. Totiž aj v potravinárstve platí Pasteurov výrok, že „mikroorganizmy sú našimi najnebezpečnejšími nepriateľmi“. To znamená, že mikroorganizmy ohrozujú naše zdravie a životy aj tým, že sa šíria prostredníctvom potravín, resp. že ich znehodnocujú. Dnes, keď poznáme už približne 2000 druhov choroboplodných mikróbov, vieme taktiež, že existuje ešte väčší počet takých mikroorganizmov, ktoré síce bezprostredne nie sú v stave vyvolávať choroby, avšak ohrozujú výsledky práce, prípadne aj existenciu človeka tým, že spôsobujú rozklad rôznych druhov materiálov a to predovšetkým potravín. O hospodárskom dosahu takto zapríčinených škôd si možno urobiť približnú predstavu na základe nedávno vyhotoveného odhadu, podľa ktorého straty zo znehodnotenia potravín dosahujú v celoštátnom meradle až 6 miliárd Kčs ročne, pričom prevažná časť týchto strát pripadá na škody spôsobené mikroorganizmami. Z toho vyplýva, že nielen zo zdravotníckeho, ale aj bezprostredne ekonomického hľadiska je plne zdôvodnené zintenzívniť úsilie na zdokonalenie technologických operácií, ktorých funkciou je zbaviť potraviny nežiadúcej mikroflóry. Bežné, dalo by sa povedať klasické dekontaminačné opatrenia, ako aj nové metódy slúžiace tomuto účelu, nech sú založené na fyzikálnych, chemických alebo biologických princípoch, majú spoločné to, že sú len málo účinné, prípadne celkom neúčinné voči sporulujúcim mikroorganizmom.

Ako je známe, označujú sa za sporuláty také mikroorganizmy, ktorých bunky priebehom svojho životného cyklu prechádzajú — za istých podmienok — do formy guľatého útvaru, zvanej endospóra, ktorá na základe svojej odlišnej štruktúry sa výrazne diferencuje od vegetatívnej bakteriálnej bunky. Pozrime k tomu mikrofotografie na obrazoch 1 a 2. Bez toho, že by sme sa na tomto mieste obsirnejšie zaoberali so zvláštnosťami zloženia bakteriálnej spóry, konštatujeme, že jej osobitné zloženie má za následok, že vysporulované baktérie sú mimoriadne odolné a schopné prežiť tie protimikrobiálne vplyvy, ktorým bývajú mikroorganizmy vystavené pri technologickom spracovaní potravín, resp. pri obvyklých spôsoboch sterilizácie. Preto aj hotové jedlá a polotovary, ktoré prechádzajú tepelným spracovaním a tak sa zbavujú nesporulujúcej časti



Obr. 1. Mikrofotografia buniek *Bacillus megaterium*, z ktorých niektoré sú vysporulované. Endospóry sa javia na obraze ako biele škvrny kontrastujúce s vegetatívnou bunkou odlišnej štruktúry (zväčšenie 2900-krát).



Obr. 2. Elektronmikroskopický obraz tenkého rezu cez vysporulovanú bunku odhaľuje hrubú stenu endospóry, na ktorej sa zakladá mimoriadna odolnosť voči nepriaznivým vplyvom prostredia (zväčšenie 45.300-krát).

mikroflóry, obsahujú spravidla vysporulované mikroorganizmy. Tieto potom predstavujú potenciálny zdroj mikrobiálnej skazy o to viac, že po tepelnom zásahu rozvoju sporulátov neprekážajú iné mikroorganizmy, ktoré by inak s nimi konkurovali.

Za tohto stavu vystupujú do popredia tri otázky:

1. Čo treba robiť, aby potraviny boli čo najmenej znečistené sporulujúcimi organizmami? (T. j. otázka predchádzania kontaminácie.)

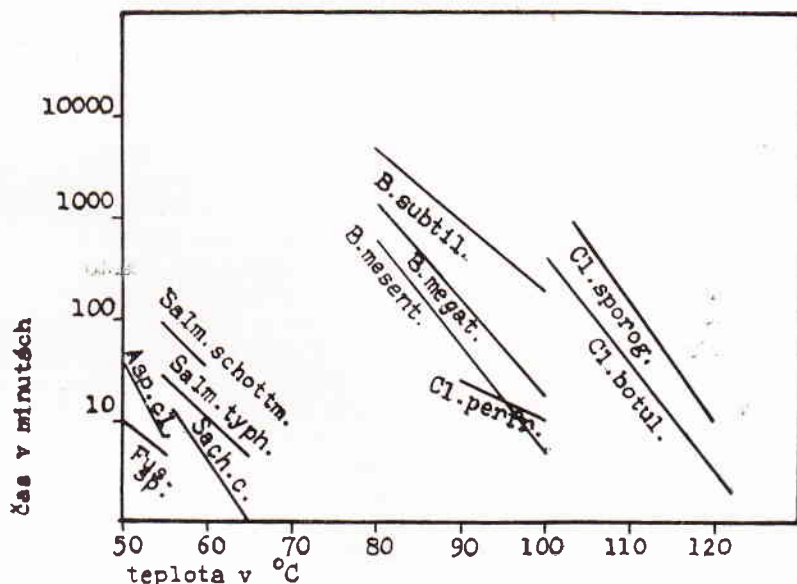
2. Aké sú možnosti devitalizácie sporulátov v rámci technológie výroby potravín vo všeobecnosti a zvlášť pri výrobe hotových jedál a polotovarov? (T. j. otázka zvýšenia účinnosti sterilizácie, prípadne zníženia odolnosti sporulátov.)

3. Aké množstvo sporulátov sa môže pripustiť v potravinárskych výrobkoch, menovite v hotových jedlách a polotovaroch, bez toho, aby ohrozovali ich zdravotnú nezávadnosť, resp. trvanlivosť? (T. j. otázka mikrobiologických noriem a im prislúchajúcich vyšetrovacích metód.)

Na prvú otázku možno v krátkosti odpovedať toľko, že sporulujúce mikroorganizmy sú prakticky všade prítomné, sú najmä vo vzduchu, v pôde a lipnú na prachu; naproti tomu sú sporuláty len zriedkakedy prvotne prítomné v čerstvom potravinárskom materiáli, nech je už tento pôvodu rastlinného alebo živočíšneho. Z toho potom vyplýva jednoduchá poučka, že starostlivosťou o hygienu potravinárskej suroviny, najmä jej ochranou pred mikrobiálnym znečistením a to aj pred vzdušnou kontamináciou, ktorá sa tak často zanedbáva, možno podstatne znížiť výskyt sporulátov. Sem patrí ďalej zvýšenie účinnosti čistiacich procesov v rámci prípravy surovín, akým je napr. pranie zeleniny, a to platí rovnako na všetky ostatné opatrenia na zvyšovanie hygieny výroby a manipulácie, s ktorými sa pochopiteľne nemôžeme na tomto mieste detailnejšie zaoberať.

Zodpovedanie druhej otázky je už podstatne obťažnejšie a vyžaduje si siahaf po poznatky základného výskumu, ktorý skúma špecifickú odolnosť mikrobiálnych, menovite bakteriálnych spór a faktory, ktoré ju ovplyvňujú. O skoro neuveriteľnej teplovzdornosti spór niektorých druhov mikroorganizmov informuje graf na obraze 3, do ktorého sú na porovnanie zakreslené i niektoré konformné hodnoty pre vegetatívne bunky. Údaje o vzťahu teploty a expozičného času k letalite svedčia predovšetkým o tom, že medzi odolnosťou spór rôznych druhov organizmov sú podstatné rozdiely. Tak napr. niektoré anaeróbne sporulujúce baktérie, čiže tzv. klostrídie sú schopné vzdorovať počas niekoľkých hodín teplotám nad bodom varu. Jeden z nich a to *Clostridium sporogenes*, ktorého výskyt v potravinách, resp. v hotových jedlách a polotovaroch nie je zriedkavý, odoláva v priemere vyše 3 hodiny teplote 115 °C. V „priemere“ hovoríme preto, že v závislosti od fyzikálno-chemickej povahy prostredia a od fyziologického stavu mikrobiálnej populácie sa pohybuje ešte aj individuálna odolnosť jednotlivých druhov a prípadne i kmeňov organizmov v širokých hraniciach, ako to taktiež vidieť z grafu. Z tohto poznatku sa dá usudzovať, že devitalizáciu sporulátov bude možné dosiahnuť aj inou cestou než aplikáciou primerane vysokých sterilizačných dávok čiže v danom prípade veľmi vysokou a dlhotrvajúcou teplotou, ktorej ničivé účinky na biologicky zvlášť cenné obsahové zložky potravín sa už v predchádzajúcich referátoch opätovne zdôraznili. Táto druhá alternatíva sa opiera o staršie a jednak o nové vedecké poznatky. Dávno sa vie, že vzbudená, resp. kľúčica spóra je rovnako citlivá na vplyvy prostredia ako vegetatívna forma. Tieto poznatky premietnuté do praxe dávajú

možnosť upraviť technologický proces tak, aby sa vytvorili vhodné podmienky pre vyklíčenie spór pred tepelným zásahom. V podstate tu ide o známy princíp, na ktorom je založená aj frakciovaná sterilizácia. Nové na tom však je, že sa objavili prostriedky, ktoré stimulujú klíčenie spór. Tak napr. sa zistilo, že bakteriálne spóry potrebujú k tomu, aby sa prebudili ku klíčeniu isté látky, napr. ľahko prístupné aminokyseliny a nukleozidy. Inak povedané, prítomnosť takýchto látok stimuluje klíčenie spór a tým dochádza k strate ich odolnosti. O tom, aké sú rozdiely v rezistencii medzi spórou v kľude a po vyklíčení nám hovoria výsledky pokusov na *Bacillus cereus*. V tomto prípade na LD₉₀, t. j. na 90 %-né usmrtenie, vo vysporulovanom stave bola potrebná teplota 90 °C



Obr. 3. Odolnosť niektorých druhov mikroorganizmov voči tepelnému účinku vyplývajúca z teploty a času jej pôsobenia potrebného k devitalizácii.

počas 8 minút, kým po naklíčení sa rovnaký efekt dal dosiahnuť teplotou 70 °C už po 1 a pol minúty. Poznamenáva sa, že rovnaký devitalizačný zásah má pri nižšej koncentrácii spór pomerne silnejší účinok než pri vysokej koncentrácii. Inými slovami účinnosť sterilizácie závisí aj od stupňa mikrobiálneho znečistenia. V poslednej dobe sa však získal ešte hlbší pohľad do biochémie sporulačného procesu a tým tiež vzniku rezistencie. Tak napr. sa zistilo, že vytvorenie termorezistencie spóry si vyžaduje vysokú hladinu vápnika a dipikolínovej kyseliny. Ďalej sa študovali enzymatické systémy, ktoré regulujú metabolismus týchto látok a prostriedky, ktoré blokujú príslušné metabolické cesty, o ktorých vieme, že vedú cez intermolekulárne vodíkové mostíky. Našli sa už aj látky jednak stimulujúce klíčenie, jednak inhibujúce sporuláciu, a to najmä také, ktoré nie sú potravinársky cudzorodé (napr. adenosín a l-alanín). Ďalej sa ukázalo, že ich účinok sa dá synergicky vystupňovať kombináciou

s niektorými známymi protimikrobiálnymi faktormi. Z toho vyplýva, že popri vylepšení sterilizačnej techniky sa rysujú aj iné možnosti ako vystupňovať devitalizačný efekt tepla, prípadne iných protimikrobiálnych faktorov, a to vedecky zdôvodnenými technologickými úpravami, ktoré treba samozrejme cieľene zamerať na charakter danej výroby a výrobku.

Nakoniec sa zaoberajme s treťou, asi najpálčivejšou otázkou, týkajúcou sa zdravotnej a technologickej opodstatnenosti mikrobiologických noriem, v ktorých je vyčíslený prípustný počet sporulujúcich organizmov v hotových jedlách a polotovaroach. Tu treba hneď zdôrazniť, že za súčasného stavu výroby je nevyhnutné, aby sa istý počet sporulátov trpel v týchto výrobkoch, ide len o to, koľko. Nemá zmyslu určiť takéto normy prehnane prísne, ako sme toho svedkami u ČSN vzťahujúcich sa na sterilizované konzervy, ktoré pripúšťajú iba 10 sporulátov na g materiálu. Nehľadiac na to, že bežné laboratórne metódy na stanovenie sporulátov nedávajú natoľko presné výsledky, aby sa o ne mohli opierať číselné normy uvedeného radu, treba uviesť, že podobné prísne normy nenachádzame ani u detskej výživy. Aj naše dlhoročné skúsenosti a poznatky z literatúry súhlasne potvrdzujú, že radový výskyt saprofytických sporulátov pod hranicou $10^3/g$ nie je príčinou zdravotnej závadnosti potravín. Tento názor potvrdzujú aj mikrobiologické normy, ktoré povoľujú niekoľko tisíc sporulátov v grame, ako je tomu napr. u ČSN pre mrazené hotové pokrmy, polievky a polotovary. Poznamenáva sa, že klinické skúsenosti nasvedčujú tomu, že k ochoreniu dospelých osôb došlo iba v tých prípadoch, keď konzumovali väčšie množstvo potravín, ktoré obsahovali sporuláty, menovite *Bacillus cereus* v koncentráciách niekoľko miliónov zárodkov v grame. Veľké rozdiely medzi uvedenými číselnými normami strácajú na význame, ak si uvedomujeme veľkú rýchlosť, ktorou sa mikroorganizmy za daných vhodných podmienok rozmnožujú. Z toho potom vyplýva praktický záver, že sporuláty, ako zbytková mikroflóra odolávajúca technologickým zásahom, môžu po vyklíčení za vhodných podmienok už za krátky čas, t. j. o niekoľko hodín rozmnožiť sa do takej miery, ktorá prekračuje sebamäkkšiu normu, a ohrozuje zdravie konzumenta.

Pri všetkej dôležitosti problému sporulátov treba záverom predsa len zdôrazniť, že táto otázka predstavuje len malý úsek komplexu potravinárskej mikrobiológie, s ktorou sa budeme zaoberať na osobitnom seminári. (Tento seminár, organizovaný v spolupráci s Čs. spoločnosťou mikrobiologickou pri ČSAV, sa konal 1. októbra t. r. v Bratislave.)