

Matematické modelovanie vplyvu *Lactobacillus rhamnosus* a teploty na rast *Bacillus cereus*

DENISA LAUKOVÁ - LUBOMÍR VALÍK -
KOREŇOVÁ JANKA - FRIDRICH GÖRNER

SÚHRN. V práci sa prezentujú odozvy rastu *Bacillus cereus* pri teplotách ($8 \pm 0,5$) °C, ($10 \pm 0,5$) °C a ($12 \pm 0,5$) °C v mlieku (UHT mlieko; obsah tuku 1,5 %), do ktorého sa zámerne pridávali počiatočné koncentrácie 18h kultúry *Lactobacillus rhamnosus* VT1. Vychádzajúc z matematickej analýzy rastových rýchlostí *Bacillus cereus* získaných pod vplyvom kombinácií počiatočnej koncentrácie *L. rhamnosus* VT1 a teplôt inkubácie je možné správanie *B. cereus* opísať vzťahom: $\mu = -0,0061 + 0,0061 T - 0,0069 V_0$ ($R^2 = 0,847$). Výsledky poukázali na skutočnosť, že pri všetkých troch testovaných teplotách, metabolity laktobacila významne ovplyvňovali rastovú rýchlosť *B. cereus*, a to aj pri jeho najnižších počiatočných koncentráciach. Objemy inokula trvanie lag-fázy *B. cereus* výraznejšie neovplyvňovali.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: *Bacillus cereus*; *Lactobacillus rhamnosus*; predikcia dynamiky rastu; prediktívna mikrobiológia

V posledných rokoch sa potravinárska mikrobiológia dostáva do povedomia potravinárskych odborníkov prostredníctvom rozvoja tzv. prediktívnej mikrobiológie. Prediktívna mikrobiológia využíva matematické modely, resp. vzťahy, ktoré popisujú správanie sa mikroorganizmov v požívatinách. Matematické modelovanie sa v zásade orientuje na choroboplodné mikroorganizmy a na mikroorganizmy, ktoré potraviny znehodnocujú. Získané údaje sa v prvom prípade využívajú pri hodnotení hygienickej bezchybnosti a neškodnosti potravín a v druhom prípade sa uplatňujú pri definovaní a overovaní trvanlivosti potravinárskych výrobkov. Prístupy uplatňované v tejto oblasti sú založené na predpoklade, že odozvy populácií mikroorganizmov

Doc. Ing. Lubomír VALÍK, PhD., Ing. Denisa LAUKOVÁ, PhD., Prof. Ing. Dr. Fridrich GÖRNER, DrSc., Katedra výživy a hodnotenia potravín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Ing. Janka KOREŇOVÁ, Výskumný ústav potravinársky, Štefánikova 45, 900 01 Modra.

Korešpondujúci autor: Doc. Ing. Lubomír VALÍK, PhD., e-mail: lubomir.valik@stuba.sk

na faktory ich vonkajšieho a vnútorného prostredia sú reprodukovateľné, čo znamená, že tieto odozvy sa dajú kvantitatívne vyjadriť [1, 2].

Problematica prítomnosti a obsahu *B. cereus* v pasterizovaných mliečnych produktoch ako aj v jogurtových krémoch, nadobúda na význame z viacerých dôvodov.

B. cereus je ubikvitárny aeróbný spórotvorný organizmus, ktorý tvorí dva typy enterotoxínov. Diarogénny spôsobuje hnačky a emetický vyvoláva zvracanie [3].

Diarogénny toxín je proteín produkovaný v exponenciálnej fáze rastu *B. cereus*. Je termolabilný, inaktivuje sa za niekoľko minút pri 60 °C. Je citlivý na obsah organických kyselín (pH <5) a pôsobenie proteolytických enzýmov. Ochorenie, ktoré spôsobuje tento toxín má charakter toxiko-infekcie. Vzhľadom na viaceré faktory, od ktorých závisí vyvolanie ochorenia, je veľkosť infekčnej dávky v súčasnosti predmetom diskusie. Podľa TEGIFFELOVEJ [4] a NOTERMANSA [5] sa reálne pohybuje v rozmedzí 10^4 až 10^7 KTJ.g⁻¹ skonzumovanej potraviny a v hlavnej miere je závislý od stavu imunitného systému človeka [6].

Emetický toxín je cyklický peptid, termorezistentný, odolný voči trypsínu a pepsínu, ako aj nízkym hodnotám pH. Ochorenie spôsobené týmto toxínom má skôr charakter intoxikácie. Dávka, ktorá môže intoxikáciu vyvolať, predstavuje podľa TEGIFFELOVEJ [4] kontamináciu *B. cereus* v požívatine o niečo vyššiu, v rozsahu 10^5 až 10^8 KTJ.g⁻¹.

Z hľadiska technologického spracovania a opracovania potravín sú významné ďalšie vlastnosti *B. cereus*. Predovšetkým jeho spóry prekonávajú kombinácie bežných pasterizačných teplôt a časov, čiže sú termorezistentné. Túto skutočnosť dokumentujú i nasledovné D-hodnoty (definované ako čas potrebný na zníženie počtu spór o 90 % alebo 1 log poriadok): D₉₀ = 21 až 137 min, D₉₅ = 14 min, D_{97,5} = 5,9 min, D₁₀₀ = 2,5 min, D_{102,5} = 1,5 min a D₁₀₅ = 0,76 min. V literatúre sa tiež uvádza, že pasterizačné teploty s dlhšou výdržou podporovali klíčenie spór *B. cereus* [7, 8].

Na druhej strane niektoré kmene *B. cereus* dokážu dobre rásť pri chladiarenských teplotách, sú psychrotrofné [9-11]. Nemeckí autori sa tiež venovali psychrotrofným spórotvorným druhom rodu *Bacillus* v pasterizovanom mlieku, pričom zistili, že ich obsah sa pohyboval v rozmedzí 25 až 35 %. Najviac bol pritom zastúpený psychrotrofný druh *B. cereus*, ktorý neskôr klasifikovali ako nový druh *Bacillus weihenstephanensis* [11]. Viacerí autori [12-16] sa vo svojich prácach zhodli, že práve psychrotrofné kmene *B. cereus* predstavujú vážny problém vo výrobe, ktorý by sa mohol prejavíť, ak by snaha o predlžovanie trvanlivosti pasterizovaných mliečnych produktov pokračovala.

Aby sme boli konkrétni, uvedieme z minulosti jeden typický príklad intoxikácie spôsobenej *B. cereus* v pasterizovanom mlieku, ktoré sa vyskytlo v internátnom stravovacom zariadení na Slovensku v r. 1984 [17]. Ochorelo 347 stravníkov. Ochorenie sa vyznačovalo krčovitými bolesťami brucha a vodnatou hnačkou. U menšieho počtu postihnutých sa prejavila aj nevoľnosť a zvracanie. Hnačky trvali 1 až 2 dni. Prvé prípady ochorenia sa objavili u 70 % stravníkov v priebehu 7 h od obeda alebo večere, ktoré boli doplnené konzumáciou pasterizovaného mlieka. Vyšetrovaním sa zistilo, že do bezchybného čerstvého pasterizovaného mlieka dodaného v pondelok ráno sa primiešalo pasterizované mlieko z predošlého piatku, ktoré sa uchovávalo 3 až 4 dni v chladničke (bez udania jej teploty). Z priebehu ochorení u postihnutých a z výsledkov bakteriologického vyšetrenia zvyškov mlieka sa usúdilo, že príčinou tohoto hromadného ochorenia bol mikroorganizmus *B. cereus* a ním vytvorený prevažne hnačkový toxín. V podozrivom mlieku sa bakteriologickou analýzou stanovilo $1,4 \cdot 10^7$ a $1,7 \cdot 10^7$ KTJ.ml⁻¹ *B. cereus*. Oficiálne sa konštatovalo, že príčinou ochorenia bolo pasterizované mlieko uchovávané v chladničke od piatku až do pondelka. Toto mlieko obsahovalo len buniu *B. cereus* a takú koncentráciu toxínov, ktorá aj po zriedení čerstvým pasterizovaným mliekom stačila na vyvolanie hromadného ochorenia stravníkov.

Technologicky nežiaduce sú aj proteolytické enzýmy produkované *B. cereus*, ktoré môžu vyvolať sladké zrážanie mliek, smotán a miešaných jogurtov. Na významnosť tejto problematiky v pasterizovaných konzumných mliekach a miešaných jogurtoch poukázali práce [13-16, 18]. Z nich vyplynulo, že ak je k dispozícii čas (pri produktoch s predĺženou trvanlivosťou), vhodná teplota (nedostatočné chladenie), dostatok kyslíka (miešané produkty) a prípadne sa použije oslabená kultúra baktérií mliečneho kysnutia, napríklad pri výrobe kyslomliečnych produktov, môže *B. cereus* spôsobiť chyby chuti a konzistencie a ak by prítomné kmene tvorili toxíny, môže spôsobiť aj intoxikáciu.

Vyklíčenie spór a rast *B. cereus* v kyslomliečnych produktoch za normálnych podmienok nie sú pravdepodobné. Na druhej strane, nie je možné úplne vylúčiť výskyt chýb pri výrobe, ktoré by mohli hrať negatívnu úlohu predovšetkým pri mierne kyslých mliečnych produktoch. Ako preventívny prostriedok sa v takýchto prípadoch môže použiť prídavok tzv. doplnkových ochranných kultúr baktérií mliečneho kysnutia.

Baktérie mliečneho kysnutia sú anaeróbne grampozitívne, nesporulujúce, katalázo-negatívne koky alebo paličky. Sú acidotolerantné a ich metabolizmus je striktne fermentatívny. Kyselinu mliečnu tvoria ako hlavný a konečný produkt, no popri nej môžu tvoriť aj ďalšie krátkoreťazcové mastné kyseliny

a široké spektrum nízkomolekulových látok s antimikrobiálnou aktivitou, akými sú okrem organických kyselín i alkoholy, oxid uhličitý, acetaldehyd, diacetyl, peroxid vodíka, prípadne iné metabolity [19-24]. Niektoré kyslomliečne baktérie majú schopnosť produkovať aj antimikrobiálne peptidy a proteíny sumárne nazývané bakteriocíny, ktoré môžu inhibovať alebo redukovať nežiaducu mikroflóru v požívatinách [25]. Väčšina z týchto látok má pomerne široké spektrum aktivity voči taxonomicky blízkym, ale aj iným mikroorganizmom.

Lactobacillus rhamnosus patrí medzi baktérie mliečneho kysnutia, o ktoré mliekarenské technológovia a mikrobiológovia prejavujú zvýšený záujem. Zameriavajú sa predovšetkým na probiotické vlastnosti niektorých jeho kmeňov, napríklad *L. rhamnosus* GG, ale aj antimikrobiálnu aktivitu voči kontaminujúcim mikroorganizmom. Tieto jeho vlastnosti sa už využívajú aj komerčne vo forme tzv. ochranných kultúr aplikovaných napríklad do kyslomliečnych produktov [26].

Cieľom tejto práce bolo kvantitatívne charakterizovať správanie sa spórotvorného a toxinogénneho organizmu *Bacillus cereus* v prípade, ak by sa počas uchovávanía nachádzal v mliečnom produkte spoločne s vybraným kmeňom *Lactobacillus rhamnosus* VT1. Nakoľko sa zistilo, že tento kmeň pôsobil inhibične voči kvasinkám a mikroskopickým vláknitým hubám, bolo jedným z ďalších cieľov zistiť, či tento kmeň pôsobí inhibične aj na baktérie, v našom prípade *B. cereus*.

Materiál a metódy

Mikroorganizmy

Kmeň *Bacillus cereus* sa izoloval z pasterizovaného mlieka s obsahom tuku 15 g.l⁻¹ vyočkovaním vzorky na povrch tuhej selektívno-diagnostickej pôdy podľa Mossela. Vyrastené kolónie sa mikroskopicky posúdili a potvrdili biochemickými testami podľa STN ISO 7932 [27].

Kmeň *Lactobacillus rhamnosus* VT1 izolovaný z tatárskej omáčky je zaradený do Zbierky mikroorganizmov Ústavu technológie mléka a tuků VŠCHT v Prahe pod číslom DMF 30105. Kmeň *L. rhamnosus* VT1 zapožičal Ústav technológie mléka a tuků VŠCHT v Prahe.

Zostavenie pokusov

Dynamika rastu horeuvedených baktérií sa sledovala v ultrapasterizovanom mlieku s obsahom tuku 15 g.l⁻¹ (Rajo a. s., Bratislava). Pre kontrolu sa tzv. praktická sterilita použitého UHT mlieka v každom pokuse overovala

stanovením celkového počtu mikroorganizmov podľa normy STN EN ISO 4833:2004 [28]. UHT mlieko sa potom asepticky prenieslo do paralelných sterilných baniek a súčasne inokulovalo suspenziou 24h kultúry *B. cereus* a príslušným množstvom 18h kultúry *L. rhamnosus* VT1, odstupňovane od 1 % až 10 % v/v (V_0). Pred inokuláciou mlieka sa obidve kultúry kultivovali za ich optimálnych podmienok, t. j. na GTK agare a v MRS-bujóne pri 30 °C a 37 °C, v poradí *B. cereus* a *L. rhamnosus* VT1. Naočkované mlieka sa inkubovali v termostate (Lovibond, Dortmund, Nemecko) pri teplotách $(8 \pm 0,5)$ °C, $(10 \pm 0,5)$ °C a $(12 \pm 0,5)$ °C.

Za účelom zostrojenia rastových čiar sa v každom paralelnom pokuse vo vhodných intervaloch stanovovali obsahy prítomných druhov baktérií.

Stanovenie obsahu Bacillus cereus

Obsah *B. cereus* sa stanovil vyočkovaním 4 až 8 ml vzorky, t. j. 10 až 20-krát po 0,4 ml na povrch tuhej selektívno-diagnostickej pôdy podľa Mossela [27]. *B. cereus* tvoril na tomto médiu ružové, drsné kolónie na červenooranžovom podklade, obklopené zónou precipitátu bielorúžovej farby.

Stanovenie hodnoty pH

Hodnoty pH vzoriek mlieka naočkovaného kultúrami *B. cereus* a *L. rhamnosus* VT1 sa zisťovali použitím prístroja Radelkis OP 208/1 (Budapešť, Maďarsko).

Matematické spracovanie výsledkov

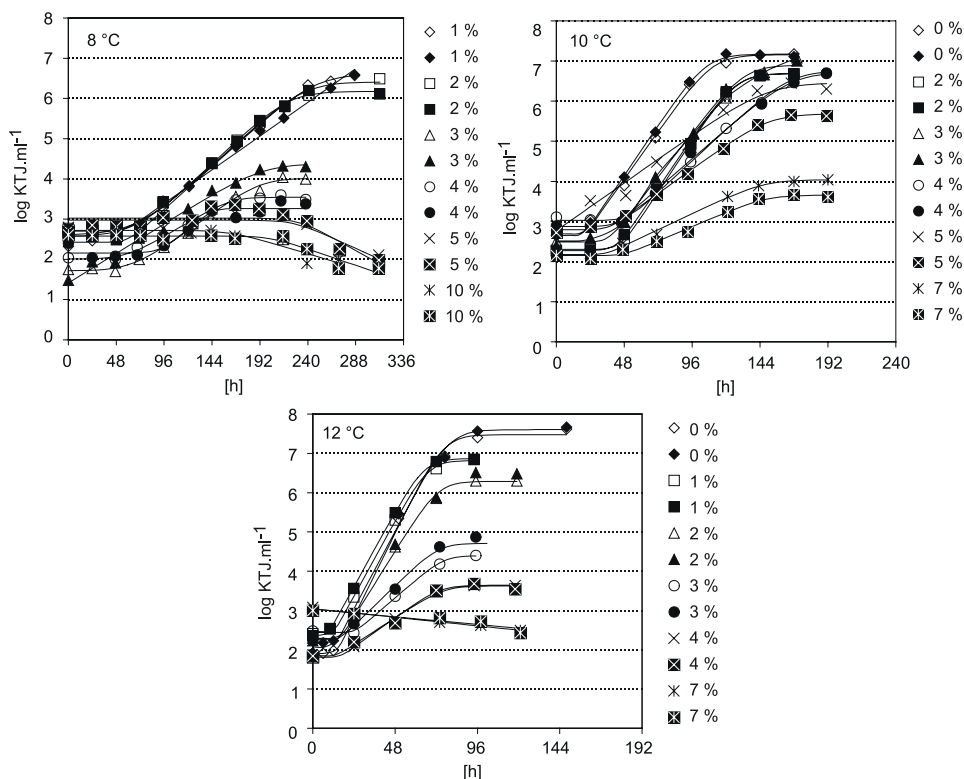
Výsledky obsahu *B. cereus* získané v priebehu experimentov sa pri každej teplote a inokulácii *L. rhamnosus* VT1 použili na zostrojenie rastových čiar a výpočet ich parametrov. Pre tento účel sa použil model podľa Baranyiho popisujúci rastové čiarly mikroorganizmov na základe logistickej matematickej funkcie [29]. Získané parametre rastu *B. cereus* sa následne zosumari- zovali v závislosti od koncentrácie 18h kultúry *L. rhamnosus* VT1 a teplôt, pri ktorých sa inokulované mlieka uchovávali.

Výsledky a diskusia

Obsah Bacillus cereus v mliečnom živnom prostredí s koncentráciou L. rhamnosus VT1 0 % až 10 % pri teplotách 8 °C, 10 °C a 12 °C

Dynamika rastu *B. cereus* v mliečnom prostredí v závislosti od koncentrácie *L. rhamnosus* VT1 pri teplote 8 °C, 10 °C a 12 °C je znázornená na obr. 1. Ako je možné z obrázkov vidieť, rastová rýchlosť *B. cereus* sa so zvyšujúcou

sa koncentráciou čistej 18h kultúry *L. rhamnosus* VT1 znižovala a trvanie lag-fázy sa pozvoľna predlžovalo. Maximálne priemerné hodnoty rastovej rýchlosti *B. cereus* sa pozorovali v UHT mlieku bez prítomnosti kultúry *Lactobacillus*. Pri 8 °C sa vypočítala rastová rýchlosť *B. cereus* $\mu = 0,031 \text{ h}^{-1}$, čo znamenalo, že generačný čas bol 9,7 h. BERGE a kol. [30] a DUFRENNE a kol. [12] zistili priemerné generačné časy *B. cereus* pri teplote 7 °C od 6,7 h až do 75 h v závislosti od teploty predinkubácie. Generačný čas nami vyšetřovaného psychrotrofného kmeňa, bol síce zistený pri 8 °C, ale zapadá do intervalu hodnôt zistených uvedenými autormi. Zvýšením teploty uchovávaní z 8 °C na 12 °C sa rastová rýchlosť kmeňa *B. cereus* v mlieku bez prítomnosti



OBR. 1. Rastové čiar *Bacillus cereus* v zámerne inokulovanom UHT mlieku v závislosti od počiatočnej koncentrácie *Lactobacillus rhamnosus* VT1 pri teplotách $(8 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$, $(10 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ a $(12 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

FIG. 1. Growth curves of *Bacillus cereus* in inoculated UHT milk in dependence of initial *Lactobacillus rhamnosus* VT1 concentration at temperatures $(8 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$, $(10 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ and $(12 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

KTJ - CFU (colony forming units).

kultúry laktobacilov zvýšila o 41 % na priemernú hodnotu $0,086 \text{ h}^{-1}$, čomu zodpovedalo skrátenie generačného času na 3,5 h.

B. cereus bol za podmienok pokusov schopný v mlieku rásť pri 8°C a počiatočných koncentráciách *L. rhamnosus* VT1 1 % až 4 % (v/v). Pritom však, napríklad, v pokusoch s mliekom, ktoré sa naočkovalo len 1% prídavkom 18h kultúry *L. rhamnosus* VT1 sa rastová rýchlosť *B. cereus* znížila priemerne o 35,5 % oproti jeho rastovej rýchlosti v kontrolných pokusoch bez prídavku laktobacila.

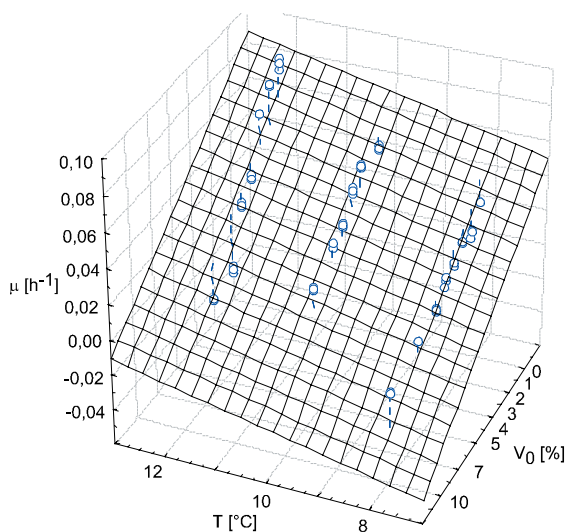
B. cereus vykazoval známky inhibície prejavujúcej sa lag-fázou dlhšou ako 6 d a následným znižovaním počtu KTJ.ml^{-1} až pri vyšších objemoch pridanej laktobacilovej kultúry. Túto inhibíciu bolo možné vyjadriť negatívnymi hodnotami smernice lineárnej časti, v týchto prípadoch nie rastovej, ale čiaru odumieracej. Pokles počtu živých buniek *B. cereus* v mliekach obsahujúcich až 10 % v/v 18h kultúry *L. rhamnosus* VT1 reprezentovala priemerná hodnota $-0,008 \text{ h}^{-1}$, čo bolo ekvivalentné zníženiu o jeden logaritmický poriadok za 39 h.

Pri teplotách 10°C a 12°C , ktoré by mohli v praxi reprezentovať nedostatočné chladenie produktov obsahujúcich tzv. ochrannú kultúru, sa zistil významnejší pokles rastovej rýchlosti *B. cereus* v mliekach s 3 % v/v kultúry *L. rhamnosus* VT1 pridanej na počiatku. Pri teplote 10°C táto inokulácia *L. rhamnosus* VT1 spôsobila zníženie rastovej rýchlosti *B. cereus* o 12,8 % a pri teplote 12°C až o 53,5 % v porovnaní s mliekom bez inokulácie laktobacilom. Teplota 12°C pôsobila priaznivejšie na rast, rozmnožovanie a metabolickú aktivitu *L. rhamnosus* VT1, o čom svedčili aj namerané hodnoty pH. Aktívna kyslosť po 144 hodinách inkubácie mliek naočkovaných so 4 % v/v kultúry *L. rhamnosus* VT1 bola napríklad pri 12°C vyššia (nižšie $\text{pH} = 4,81$), ako pri 10°C , vyššom objeme prídavku kultúry *L. rhamnosus* a dlhšom čase inkubácie ($\text{pH} = 5,46$; pri $V_0 = 7\%$; 192 h).

Pre zjednodušenie sa zistené rastové rýchlosti *B. cereus* (μ) podrobili lineárnej regresnej analýze v závislosti od faktorov, ktorých vplyv sa doteraz popisoval, t. j. od teploty (T) a objemu počiatočnej inokulácie 18h kultúry *L. rhamnosus* VT1 (V_0). Túto závislosť vyjadruje názorné grafické znázornenie zobrazené na obr. 2 a rovnica tvaru:

$$\mu = -0,0061 + 0,0061 T - 0,0069 V_0 \quad (\text{korelačný koeficient } R^2 = 0,847)$$

Z obidvoch vyjadrení je vidieť, že vplyv týchto faktorov bol prakticky rovnocenný. Rastová rýchlosť *B. cereus* sa za podmienok pokusov zvyšovala s teplotou inkubácie a prirodzene klesala so zvyšovaním inokulácie



OBR. 2. Rastová rýchlosť *Bacillus cereus* (μ) izolovaného z pasterizovaného mlieka v závislosti od počiatocného objemu inokula (V_0) kultúry *Lactobacillus rhamnosus* VT1 v mlieku pri teplotách $(8 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, $(10 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ a $(12 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

FIG. 2. Growth rate of *Bacillus cereus* (μ) isolated from pasteurized milk in dependence on the initial inoculum size (V_0) of *Lactobacillus rhamnosus* VT1 in milk at temperatures $(8 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, $(10 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ and $(12 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

L. rhamnosus VT1. Regresný koeficient teploty bol kladný a o niečo nižší ako koeficient objemu inokula laktobacilovej kultúry (V_0).

Horeuvedené výsledky kvantitatívne vyjadrili pôsobenie vybranej kultúry na správanie sa *B. cereus*, čo je významné z hľadiska predpovedí v prípadoch, ktoré sú v anglickej literatúre označované ako „what if analysis“, teda v prípadoch „čo sa stane, ak“. Pokusy vykonané pri 8°C naznačili synergický účinok nízkej teploty a vyššieho počiatocného objemu V_0 inokulovanej laktobacilovej kultúry. Na druhej strane pri 12°C bolo možné z pokusov na prvý pohľad dedukovať, že zvýšená teplota zvýšila metabolickú aktivitu laktobacila a až prostredníctvom vytvorenej kyseliny mliečnej a tomu zodpovedajúcemu zníženiu hodnoty pH sa dosiahla inhibícia *B. cereus*, ktorá bola prirodzene najväčšia pri najvyššom počiatocnom objeme inokula *L. rhamnosus* $V_0 = 7\%$.

Spomedzi študovaných vnútorných faktorov jednoznačne najlepší vzťah k rastovým rýchlostiam *B. cereus* vykazoval objem inokula *L. rhamnosus* VT1. Počiatocná hodnota pH po inokulácii mlieka významne neovplyvnila rastovú rýchlosť *B. cereus*. Rovnako nie je ešte v tejto fáze možné diskutovať

o tom, ktorý z metabolitov *L. rhamnosus* VT1 mal rozhodujúci vplyv na správanie sa *B. cereus*. Je možné, že to bol hlavný metabolit - kyselina mliečna, ktorý tento laktobacilus za optimálnych podmienok tvorí až do koncentrácie $(1,01 \pm 0,02) \text{ mmol.l}^{-1}$ [31], ale mohli to byť aj iné špecificky pôsobiace nízkomolekulové látky neproteínového a nesacharidického pôvodu, ktoré ešte nie sú bližšie určené [32, 33].

Záver

V práci sa matematicky analyzoval rast čistej kultúry *B. cereus* v mliečnom substráte v závislosti od teploty uchovávania, ako aj od rôznej počiatočnej koncentrácie kmeňa *L. rhamnosus* VT1. Rozdiely medzi hodnotami rastových rýchlostí *B. cereus* v UHT mlieku zámerne inokulovanom oboma kultúrami poukázali na skutočnosť, že pri nízkych teplotách uchovávania bola inhibícia dynamiky rastu *B. cereus* výsledkom kombinovaného účinku nízkej teploty a metabolitov *L. rhamnosus* VT1. Avšak teploty vyššie ako 10 °C už priaznivo pôsobili na rast, rozmnožovanie a metabolizmus *L. rhamnosus* VT1, a tak bola parciálna inhibícia dynamiky rastu *B. cereus* zapríčinená predovšetkým rôznou počiatočnou koncentráciou inokula laktobacila a zníženou pH hodnotou substrátu. Predpokladáme, že v štúdiu vlastností *B. cereus* budeme pokračovať, nakoľko použité postupy matematického modelovania sú využiteľné aj pri ďalších experimentoch s týmto kmeňom zameraných na kombinovaný účinok vyšších teplôt a metabolitov *L. rhamnosus* VT1 ako aj iných doplnkových kultúr baktérií mliečneho kysnutia.

Literatúra

1. McKELLAR, R. C. - BUTLER, G. - STANICH, K.: Modelling the influence of temperature on the recovery of *Listeria monocytogenes* from heat injury. *Food Microbiology*, 14, 1997, č. 6, s. 617-625.
2. VALÍK, L.: Predikcia v potravinárskej mikrobiológii. Súčasný pohľad na problematiku a postrehy zo študijného pobytu na Institute of Food Research v Readingu. *Bulletin potravinárskeho výskumu*, 36, 1997, s. 225-236.
3. GRANUM, P. E. - BRYNESTAD, S. - O'SULLIVAN, K. - NISSEN, H.: Enterotoxin from *Bacillus cereus*: production and biochemical characterization. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 47, 1993, s. 63-70.
4. TE GIFFEL, M.: Isolation, identification and characterization of *Bacillus cereus* from the dairy environment. Wageningen : Landbouwniversiteit Wageningen, 1997. 150 s.
5. NOTERMANS, S.: Risiko-Analyse als Basis der Herstellung sicherer Lebensmittel. *Lebensmittel und Biotechnologie*, 3, 1997, s. 98-101.

6. BEDNÁŘ, M. - FRAŇKOVÁ, V. - SCHINDLER, J. - SOUČEK, A. - VÁVRA, J.: Lékařská mikrobiologie. Praha : Marvil, 1999. 558 s.
7. BEUTLING, D. - BÖTTCHER, C.: *Bacillus cereus* - ein Risikofaktor in Lebensmitteln. Archiv für Lebensmittelhygiene, 49, 1998, s. 90-96.
8. MARTH, E. H. - STEELE, J. L.: Applied dairy microbiology. New York : Marcel Dekker, 1998. 516 s.
9. ANDERSSON, A. - RÖNNER, U. - GRANUM, P. E.: What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*? International Journal of Food Microbiology, 28, 1995, č. 2, s. 145-155.
10. LARSEN, H. D. - JORGENSEN, K.: Growth of *Bacillus cereus* in pasteurized milk products. International Journal of Food Microbiology, 46, 1999, č. 2, s. 173-176.
11. MAYR, R. - EPPERT, I. - SCHERER, S.: Incidence and identification of psychrotrophic (7 °C-tolerant) *Bacillus* spp. in German HTST pasteurized milk. Milchwissenschaft, 54, 1999, č. 1, s. 26-30.
12. DUFRENNE, J. - BIJWAARD, M. - TE GIFFEL, M. - BEUMER, R. - NOTERMANS, S.: Characteristics of some psychrotrophic *Bacillus cereus* isolates. International Journal of Food Microbiology, 27, 1995, č. 2-3, s. 175-183.
13. VALÍK L. - LAUKOVÁ D. - GÖRNER F.: Obsah *Bacillus cereus* a celkový počet mikroorganizmov v pasterizovanej smotane. Bulletin potravinárskeho výskumu, 40, 2001, č. 3, s. 209-219.
14. VALÍK, L. - GREIFOVÁ, M. - GÖRNER, F.: Growth prediction of *Bacillus cereus* in pasteurized milk. In: Predictive modelling in foods. 3rd International Conference. Leuven, Belgium : Katholieke Universiteit Leuven, 2000, s. 311-312.
15. GÖRNER, F. - VALÍK, L.: *Bacillus cereus* v pasterizovanom mlieku a jeho trvanlivosť. Výživa a zdravie, 45, 2000, č. 4, s. 75-76.
16. VALÍK, L. - GÖRNER, F. - LAUKOVÁ, D.: Hodnotenie hygienickej bezchybnosti a validácia predikcie trvanlivosti pasterizovaného mlieka z hľadiska obsahu *Bacillus cereus*. In: Sborník přednášek semináře Mléko a sýry 2002. Praha : Česká společnost chemická, 2002, s. 71-76.
17. KUŠNĚROVÁ, M.: *Bacillus cereus* - agents of food-borne diseases. In: MUŽIKÁŘ, V. (ed.): Proceedings of the Czechoslovak Society for Microbiology. Praha : Československá mikrobiologická společnost, 1988, s.172-175.
18. GREIFOVÁ, M. - VALÍK, L. - MEČIAŘOVÁ, M. - GÖRNER, F.: Vplyv prítomnosti *Bacillus cereus* na konzistenciu miešaného jogurtu. Bulletin potravinárskeho výskumu, 37, 1998, č. 4, s. 237-245.
19. RAY, B. - SANDINE, W. E.: Acetic, propionic and lactic acids of starter culture bacteria as biopreservatives. In: RAY, B. - DAESCHEL, M.: Food biopreservatives of microbial origin. Boca Raton : CRC Press, 1992, s. 104-133.
20. ADAMS, M. R. - MOSS, V.: Food Microbiology. Cambridge : The Royal Society of Chemistry, 1995. 398 s.
21. HOLZAPFEL, W. H. - GEISEN, R. - SCHILLINGER, U.: Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. International Journal of Food Microbiology, 24, 1995, č. 3, s. 343-362.
22. HELANDER, I. M. - VON WRIGHT, A. - MATTILA-SANDHOM, T. M.: Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. Trends in Food Science and Technology, 8, 1997, č. 5, s. 146-150.
23. MESSESS, W. - DE VUYST, L.: Inhibitory substances produced by *Lactobacilli* isolated from sourdoughs. International Journal of Food Microbiology, 72, 2002, č. 1-2, s. 31-43.
24. AXELSSON, L.: Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S. -

- VON WRIGHT, A.: Lactic acid bacteria, microbiology and functional aspects. New York : Marcel Dekker, 1998, s. 1-73.
25. ROSS, R. P. - MORGAN, S. - HILL, C.: Preservation and fermentation: past, present and future. International Journal of Food Microbiology, 79, 2002, č. 1-2, s. 3-16.
26. Wiesby/Danisco, Copenhagen, Dánsko: Wiesby/Danisco Starter culture and media: katalóg produktov firmy Wiesby/Danisco. 1996. 48 s.
27. STN ISO 7932. Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu baktérií *Bacillus cereus*. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. 1998.
28. STN EN ISO 4833. Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. 2004.
29. BARANYI, J. - ROBERTS, T. A. - MCCLURE, P.: A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. Food Microbiology, 10, 1993, s. 43-59.
30. BORGE, G. I. A. - SKEIE, M. - SORHAUG, T. - LANGSRUD, T. - GRANUM, P. E.: Growth and toxin profiles of *Bacillus cereus* isolated from different food sources. International Journal of Food Microbiology, 69, 2001, č. 3, s. 237-246.
31. LAUKOVÁ, A.: Stanovenie koncentrácie kyseliny mliečnej produkovanej *Lactobacillus rhamnosus* VT1. Osobné zdelenie.
32. PLOCKOVÁ, M. - STILES, J. - CHUMCHALOVÁ, J. - HALFAROVÁ, R.: Control of mould growth by *Lactobacillus rhamnosus* VT1 and *Lactobacillus reuteri* CCM 3625 on milk agar plates. Czech Journal of Food Sciences, 19, 2001, s. 46-50.
33. PLOCKOVÁ, M. - CHUMCHALOVÁ, J. - GIESOVÁ, M. - BOUŠKOVÁ, O.: Antifungal effectiveness of *Lactobacillus rhamnosus* VT1 at different temperatures. Advances in Food Sciences, 26, 2004, č. 2, s. 64-68.

Do redakcie došlo 23. 11. 2004.

Mathematical modelling of the effect of *Lactobacillus rhamnosus* and temperature on the growth of *Bacillus cereus*

LAUKOVÁ, D. - VALÍK, L. - KOREŇOVÁ, J. - GÖRNER, F.:
Bull. potrav. Výsk., 44, 2005, p. 63-73.

SUMMARY. The growth responses of *Bacillus cereus* in ultra-pasteurized milk influenced by additions of 18h *Lactobacillus rhamnosus* VT1 inocula at $(8 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$, $(10 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ and $(12 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ are presented in this study. Based upon the mathematical analysis of growth rates of *Bacillus cereus* affected by various combinations of the initial concentration of *L. rhamnosus* VT1 and incubation temperature, the behaviour of *B. cereus* can be described by the equation: $\mu = -0.0061 + 0.0061 T - 0.0069 V_0$ ($R^2 = 0.847$). The results pointed out that metabolites of lactobacilli significantly influenced the growth rate of *B. cereus* at all tested temperatures, even at the lowest initial concentration. The duration of the lag-phase of *B. cereus* was not considerably influenced by the inoculum volumes.

KEYWORDS: *Bacillus cereus*; *Lactobacillus rhamnosus*; prediction of growth dynamics; predictive microbiology