

## Predpovedná mikrobiológia

LUBOMÍR VALÍK - FRIDRICH GÖRNER

**SÚHRN.** Predpovedná mikrobiológia pojednáva o správaní sa mikrobiálnych kultúr a zmesných populácií vplyvom vnútorných a vonkajších faktorov prostredia. Matematicko - štatistické modelovanie množenia a metabolizmu mikroorganizmov umožňuje na základe známych rastových konštánt znížovať mikrobiologické riziko u rýchlo sa kaziacich potravín.

Uvádzajú sa výsledky modelovania a výpočtov rastu *Penicillium roqueforti*, kmeň PR 3 vzhľadom na  $a_w$ -hodnotu a pH-hodnotu prostredia, ako aj rastu *Lactococcus lactis* LF 416 vzhľadom na  $a_w$ -hodnotu.

Požiadavky konzumentov na požívatinu smerujú v súčasnosti predovšetkým k ich čerstvosti a minimálnemu technologickému opracovaniu a spracovaniu. Napriek tomu majú byť primerane trvanlivé a čo najdlhšie k dispozícii. Tieto požiadavky sú vo svojej povahe vo vzájomnom rozpore; výrobca, ale aj predajca, aby bol schopný uplatniť sa na trhu, musí však týmto požiadavkám spotrebiteľa vyhovieť. Dotýka sa to napr. výrobkov studenej kuchyne, jedál udržiavaných pri konzumačnej teplote v samoobslužných reštauráciách, bufetoch a pri doprave hotových jedál v teplom stave z veľkokuchýň na miesta spotreby. Požívatiny a jedlá vyrábané a ponúkané v takýchto zariadeniach si musia pritom zachovať požadované zmyslové vlastnosti a nesmú sa stať pre konzumenta hygienickým rizikom.

Rozmnožovanie mikroorganizmov a tvorba ich metabolitov v požívatinách a jedlách sú podľa Mossela [1] regulovateľné viacerými faktormi ich vnútorného a vonkajšieho prostredia. Tie, ktoré prichádzajú do úvahy sú zhrnuté v tab.1. Z vnútorných to sú: aktivita vody, aktívna kyslosť a pufrovacia schopnosť, redox potenciál a kompenzačná schopnosť, živiny, rastové faktory a prírodné antimikróbné zložky (bakteriocíny a i.). Z vonkajších to sú: teplota, kontrolovaná atmosféra a pridávané povolené antimikróbné látky. K vnú-

---

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

Tabuľka 1. Faktory vnútorného a vonkajšieho prostredia požívateľín pôsobiace na rozmnožovanie a metabolizmus mikroorganizmov (Mossel [1]).  
Table 1. Intrinsic and extrinsic factors affected microbial growth and metabolism (Mossel [1]).

VNÚTORNÉ <sup>1</sup>	VONKAJŠIE <sup>2</sup>
aktivita vody ( $a_w$ )	teplota
aktívna kyslosť (pH) a pufrovacia schopnosť	kontrolovaná atmosféra (CA)
redox potenciál ( $E_h$ ) a kompenzačná schopnosť	pridávané antimikrobiálne látky
živiny, rastové faktory	
prírodné antimikrobiálne zložky	

1 - intrinsic, 2 - extrinsic.

torným faktorom sa ešte počítajú: antagonizmus mikroorganizmov, ich kompetitívnosť, amensalizmus a antibióza.

Vplyv teploty na rozmnožovanie a metabolizmus mikroorganizmov v intervale medzi minimálnou a maximálnou je dostatočne známy; chladením sa môže rozmnožovanie spomaliť až zastaviť a zvyšovaním teploty po optimálnu sa môže urýchliť a po jej prekročení sa môžu mikroorganizmy devitalizovať. Z literatúry sú známe minimálne a optimálne teploty v potravinárstve významných baktérií, ako aj príslušné generačné časy (tab.2). V tabuľke sú uvedené minimálne a optimálne teploty ako aj príslušné generačné časy

Tabuľka 2. Kritické teploty a príslušné generačné časy niektorých potravinársky relevantných baktérií (Snyder [2]).  
Table 2. Critical temperatures and corresponding generation times of food relevant bacteria (Snyder [2]).

Baktérie <sup>1</sup>	Minimálna teplota a príslušný generačný čas <sup>2</sup>	Optimálna teplota a príslušný generačný čas <sup>3</sup>
Saprofytické a psychrotrofne baktérie	asi -2 °C 40 h	30 - 32 °C 37 min
<i>Yersinia enterocolitica</i>	asi 0 °C 2 dni	30 - 37 °C 40 min
<i>Listeria monocytogenes</i>	asi 0 °C 5 dní	37 °C 40 min
<i>Salmonella</i> spp.	asi 4 °C 67 h	37 °C 26 min
<i>Clostridium perfringens</i>	asi 16 °C 10 h	45 °C 7 min

1 - bacteria, 2 - minimal temperature and corresponding generation time, 3 - optimal temperature and corresponding generation time.

pre niektoré choroboplodné a saprofytické baktérie, ktoré prichádzajú do úvahy v potravinárstve, ako ich udáva americký autor Snyder [2]. Je vidieť, že minimálne teploty týchto baktérií sa pohybujú od -2 °C - u psychrotrófnych baktérií, po 16 °C u *Clostridium perfringens*. Príslušné generačné časy sa u nich pohybujú v priemere od 10 hodín do 5 dní. Optimálne teploty týchto baktérií sú v užšom intervale, od 30 °C po 45 °C a príslušné najkratšie generačné časy sú v intervale od 7 min u *Cl. perfringens* a do 40 min u psychrotrófnych saprofytických ako aj choroboplodných baktérií (*Yersinia enterocolitica* a *Listeria monocytogenes*).

Podobne sa môžu zostaviť tabuľky kritických hodnôt parametrov pre aktivitu vody, aktívnu kyslosť, redox potenciál, povolené konzervačné látky a pod.

Medzi minimálnymi a optimálnymi teplotami mikroorganizmov a príslušnými priemernými generačnými časmi, je plynulý prechod. Je preto možné, pri známom počiatočnom a povolenom konečnom počte mikroorganizmov, určiť teplotu uchovávaní príslušného produktu.

Operujeme teda napr. s parametrami:

- určenými (stanovenými)
  - počiatočný počet mikroorganizmov,
  - povolený konečný počet mikroorganizmov,
  - požadovaný čas uchovávaní potraviny
- a vyplývajúcim
  - teplota uchovávaní.

Určené a vyplývajúce parametre uchovávaní sa môžu podľa potreby vymieňať. Spravidla nemenným býva parameter - povolený konečný počet mikroorganizmov. Môže ním však byť aj tvorba významných metabolitov alebo klíčené spór.

Generačné časy baktérií *Listeria monocytogenes* a *Clostridium perfringens* sú napr. pri teplotách 4,4 až 32 °C v rozmedzí 24 hodín až 15 min. Tieto časy zdvojenia sa môžu predĺžiť aplikáciou suboptimálnych vnútorných alebo vonkajších faktorov prostredia. Naopak zvýšením uchovnej teploty sa môžu skrátiť, čo môže spôsobiť hygienické až zdravotné riziko (tab.3).

Tabuľka 3. Množenie *Listeria monocytogenes* v závislosti od teploty inkubácie (Snyder [2]).  
Table 3. Multiplying of *Listeria monocytogenes* in dependence on temperature of incubation (Snyder [2]).

Teplota inkubácie <sup>1</sup>	Generačný čas <sup>2</sup>	Doba uchovávaní <sup>4</sup>	Z jednej bunky vznikne <sup>4</sup>
4,4 °C	24 h	5 dní	32 buniek <sup>5</sup>
10 °C	9,2 h	5 dní	8192 buniek
		Limit <sup>6</sup> <320 buniek	

1 - temperature of incubation, 2 - generation time, 3 - time of incubation, 4 - multiplying from one cell, 5 - cells, 6 - specification.

Generačný čas psychrotrofného organizmu *Listeria monocytogenes* je pri 4,4 °C 24 hodín, čo znamená že za 5 dní by z jednej bunky vzniklo teoreticky 5 generácií, čiže  $2^5 = 32$  buniek. Z 10 buniek by vzniklo 320 buniek, čo je podľa Snydera [2] pre zdravého dospelého človeka ešte neškodné. Zvýšením úchovnej teploty na 10 °C sa generačný čas skráti na 9,2 hodiny. Za 5 dní (120 h) by vzniklo 13 generácií, čiže  $2^{13} = 8192$  buniek, čo už významne prekračuje minimálnu infekčnú dávku.

Pri množení termofilného mikroorganizmu *Clostridium perfringens* (tab.4), ktorý má pri 27 °C generačný čas 42 min, vznikne za 6 hodín z jednej bunky teoreticky 380 buniek. V požívatinách únosný limit sa udáva 100 KTJ/ml;g a riziková koncentrácia  $10^6$  KTJ/ml;g. Už pri 32 °C sa jeho generačný čas skráti na 15 min, čo znamená, že za 6 hodín vznikne z jednej bunky teoreticky takmer 17 000 000 buniek, čo už významne prekračuje rizikovú koncentráciu.

Tabuľka 4. Množenie *Clostridium perfringens* v závislosti od teploty inkubácie (Snyder [2]).  
Table 4. Multiplying of *Clostridium perfringens* in dependence on temperature of incubation (Snyder [2]).

Teplota inkubácie <sup>1</sup>	Generačný čas <sup>2</sup>	Doba uchovávanía <sup>3</sup>	Z jednej bunky vznikne <sup>4</sup>
15 °C	24 h	6 h	žiadne množenie <sup>5</sup>
27 °C	42 min	6 h	380 buniek <sup>6</sup>
32 °C	15 min	6 h	17 000 000 buniek
		Limit <sup>7</sup> < 100 buniek Riziko <sup>8</sup> > 1 000 000 buniek	

1 - temperature of incubation, 2 - generation time, 3 - time of incubation, 4 - multiplying from one cell, 5 - no growth, 6 - cells, 7 - specification, 8 - hazard.

## Modelovanie rastových konštánt

V mikrobiologickom laboratóriu sa môžu vplyvy vnútorných a vonkajších faktorov prostredia experimentálne modelovať, čo je však materiálovo a časovo veľmi náročná práca a získané výsledky sú platné iba pre dané experimentálne podmienky.

Potravinárski mikrobiológovia zaoberajúci sa s matematickými analýzami rastu, metabolizmu a devitalizácie mikroorganizmov zistili, že riešenie takejto úlohy sa môže zjednodušiť. Vychádzali zo skutočnosti, že rast mikrobiálnych kultúr, napriek ich biologickej zložitosti podlieha pomerne jednoduchým zákonitostiam. Obecne platné bakteriálne rastové konštanty sa môžu pomerne jednoducho a presne stanoviť a sú dobre reprodukovateľné [3]. Výsledky modelových pokusov sa dajú transformovať na matematické rovnice, ktoré majú všeobecnú platnosť. Interpoláciou sa môže predpovedať správanie sa

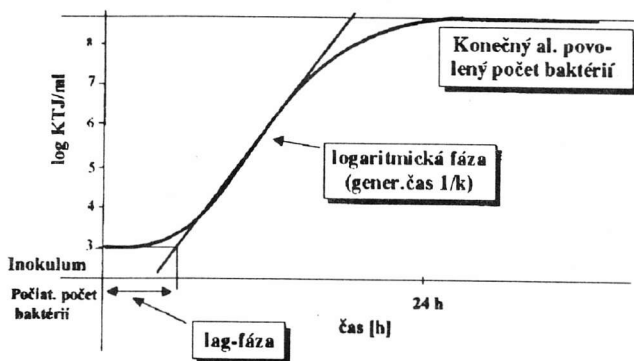
mikroorganizmov (ich rast alebo metabolizmus) aj za podmienok, ktoré neboli konkrétnymi mikrobiologickými analytickými metódami testované [4]. Toto odvetvie modernej mikrobiológie požívatín sa nazýva anglicky „predictive food microbiology“ [5], nemecky „Vorhersagende Mikrobiologie“ [6] a slovensky by sme ju mohli nazvať „prognostická alebo predpovedná mikrobiológia“.

Pre matematické modelovanie sú potrebné reprodukovateľné výsledky reálnych mikrobiologických meraní vykonaných na štandardných médiách s určitými mikroorganizmami alebo určitou skupinou mikroorganizmov.

Modelovať sa môžu tieto vlastnosti potravinársky významných mikroorganizmov:

- počet mikroorganizmov - ich množenie, prežívanie a devitalizácia,
- tvorba významných metabolitov - toxíny, inhibičné látky, organické kyseliny,
- správanie sa mikrobiálnych spór - ich klíčenie, sporulácia.

Pre mikrobiologickú bezpečnosť požívatín sa najčastejšie modeluje rast, čiže množenie mikroorganizmov. V prvej fáze modelovania sa experimentálne zostrojí rastová krivka skúmaného individuálneho mikroorganizmu alebo skupiny mikroorganizmov v definovanom štandardnom médiu pri určitej teplote (obr.1). Získaná rastová krivka sa potom charakterizuje rastovými konštantami: počiatočný počet mikroorganizmov, konečný počet mikroorganizmov, lag-fáza a log-fáza, čiže rýchlostná konštanta  $k$  (logaritmický rast).



Obr. 1. Rastové konštanty významné pre matematické modelovanie. Rastové konštanty: Počiatočný počet baktérií (inokulum), lag-fáza, log-fáza (priemerný generačný čas  $1/k$ ), konečný alebo povolený počet baktérií.

Fig. 1. Growth parameters important for mathematical modelling.

Growth parameters: Initial level of bacteria (inoculum), lag-phase, log-phase (generation time  $1/k$ ), final or limited level of bacteria.

Rýchlostná konštanta  $k$  alebo počet zdvojení za hodinu sa vypočíta zo vzťahu [7]:

$$k = \frac{\log N_t - \log N_o}{0,301t}$$

kde  $N_t$  = konečný počet m.o. za čas  $t$ ,  
 $N_o$  = počiatočný počet mikroorganizmov,  
 $t$  = čas množenia mikroorganizmov,  
 0,301 je faktor na prepočítanie  $\ln 2$  na  $\log_{10}$ .

V druhej fáze modelovania sa skúmajú vplyvy zvolených vnútorných a vonkajších faktorov prostredia na rastové konštanty rastovej krivky. Získané rastové konštanty sa popisujú matematickými rovnicami, ktoré majú všeobecnú platnosť. Dosadením hodnôt faktorov odlišného prostredia, v ktorom množenie mikroorganizmov nebolo experimentálne skúmané, do týchto rovníc sa môžu vypočítať napr. hodnoty rýchlostnej konštanty rastu  $k$  alebo jej reciprokej hodnoty generačného času  $1/k$  a prostredníctvom nich sa môže charakterizovať odozva mikroorganizmov v tomto novom prostredí.

### Kinetické modely matematického opisu množenia mikroorganizmov

Kinetické alebo pravdepodobnostné matematické modely sú vhodné na znázornenie alebo opis rastu, čiže množenia mikroorganizmov. Sú tiež vhodné na predpoveď vzniku určitého javu spojeného s rastom mikroorganizmov, napr. s tvorbou metabolitov a toxínov v závislosti od podmienok prostredia. Množenie mikroorganizmov v suboptimálnom prostredí sa môže charakterizovať ich rastovým faktorom  $\gamma$  (gama) [8]:

$$\gamma = \frac{1/k_{\text{exp.}}}{1/k_{\text{opt.}}}$$

kde  $\gamma$  = faktor množenia mikroorganizmu v experimentálnom (neoptimálnom) prostredí,  
 $1/k$  = generačný čas mikroorganizmu (alebo jeho rýchlosť rastu).

Tento faktor množenia mikroorganizmov je rovný 1, ak sú obidve prostredia rovnaké a je rovný 0, ak experimentálne prostredie nedovoľuje množenie mikroorganizmov. V ostatných prípadoch je jeho hodnota úmerná inhibičnému pôsobeniu prostredia. Faktor množenia mikroorganizmov pre pôsobenie viacerých inhibičných vplyvov súčasne sa môže vypočítať pre všetky hodnoty ich znásobením:

$$\gamma = \gamma(T) \cdot \gamma(a_v) \cdot \gamma(pH)$$

Z tejto základnej rovnice vyplýva, že konečný rastový faktor bude optimálny, ak budú všetky faktory prostredia optimálne. Pri iba jednom faktore nedovoľujúcom množenie mikroorganizmov bude rovný 0.

### Vplyv aktivity vody ( $a_v$ ) na množenie mikroorganizmov

Nás v tomto prípade zaujímala predovšetkým  $a_v$ -hodnota prostredia a jej inhibičný účinok na množenie mikroorganizmov. McMeekin a kol. [9] poukázali, a my sme opätovne potvrdili (obr.3, 4) pre výpočet výhodnú skutočnosť, že miera rastu (rýchlosť množenia mikroorganizmov) je lineárne úmerná k suboptimálnym  $a_v$ -hodnotám prostredia. Konkrétne, pre rastový faktor mikroorganizmov  $\gamma$

$$\gamma(a_v) = \frac{a_v - a_{v \min}}{1 - a_{v \min}}$$

kde  $a_{v \min}$  = minimálna  $a_v$  množenia mikroorganizmu

$a_v$  =  $a_v$  experimentálneho prostredia

$a_v \geq a_{v \min}$

Ako je z prezentovaného vzťahu vidieť, pre výpočet rastového faktora je potrebný údaj minimálnej aktivity vody, t.j. hodnoty  $a_v$ , pri ktorej do úvahy prichádzajúci mikroorganizmus prestáva v danom prostredí rásť. Spôsob stanovenia tejto hodnoty uvedieme v ďalšej, experimentálnej časti tohoto príspevku.

### Praktické aplikácie postupov prediktívnej mikrobiológie

Najväčší záujem hygienikov a potravinárskych mikrobiológov sa pochopteľne zameriava, ako to bolo vidieť na tabulkách 3. a 4., na mikroorganizmy choroboplodné, indikátorové a spôsobujúce kazenie potravín. Nás zaujímajú najmä mikroorganizmy, ktoré majú v potravinárskych technológiách pozitívne úlohy. Pre túto demonštráciu sme vybrali známu syrársku pleseň *Penicillium roqueforti*, kmeň PR3 (Chr. Hansen's Lab., Dánsko) a *Lactococcus lactis*, kmeň 416 (Milcom, a.s. Praha). Zistili sme ich odozvu na zmeny  $a_v$  - hodnoty a pH - hodnoty média.

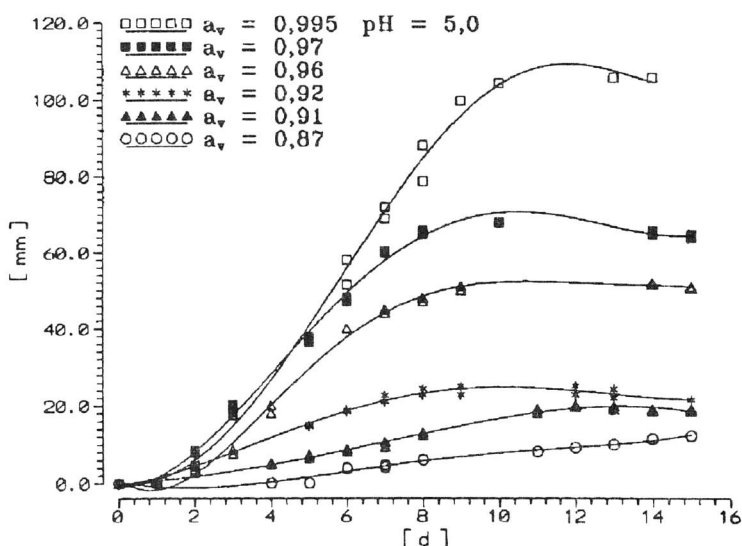
#### *Penicillium roqueforti*, kmeň PR3

Výskumníckou otázkou bolo zistiť vplyv pH-hodnoty a  $a_v$ -hodnoty média na rast *Penicillium roqueforti*, kmeň PR3. Rýchlosť rastu sme stanovili meraním priemeru kolónií na médiu podľa Sabourauda. Pre  $a_v$ -hodnoty sa zvolili, okrem

Tabuľka 5. Rýchlosť radiálneho rastu kolónií *Penicillium roqueforti* PR3 (Chr. Hansen's Lab.) v závislosti od aktivity vody ( $a_w$ ) a aktívnej kyslosti (pH) na médiu podľa Sabourauda pri  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  za 16 dní [ $d = \text{mm/deň}$ ], ( $n = 6$ ).

Table 5. Radial growth rate of *Penicillium roqueforti* PR3 (Chr. Hansen's Lab) in dependence on water activity ( $A_w$ ) and pH in Sabouraud agar at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  for 16 d [mm/day], ( $n = 6$ ).

$a_w$	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 5 až 8	$\pm \%$
0,995	12,50	12,01	11,99	11,76	12,07	2,58
0,97	9,81	9,74	8,80	8,50	9,22	7,18
0,96	6,68	6,77	6,03	5,80	6,36	7,57
0,92	3,72	4,05	3,48	3,36	3,65	8,33
0,91	1,89	1,88	2,50	2,37	2,16	14,9
0,87	0,92	1,00	1,21	0,96	1,02	12,6



Obr. 2. Dynamika rastu *Penicillium roqueforti* PR2 v závislosti od aktivity vody Sabouradovho agaru pri  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Fig. 2. Radial growth curves of *Penicillium roqueforti* PR2 in dependence on water activity of Sabouraud agar at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Rovnice rastových čiar:

$$a_w = 0,995: y = -0,096 - 3,19x + 3,51x^2 - 0,26x^3 + 0,005x^4$$

$$a_w = 0,97: y = -0,35 - 1,07x + 3,29x^2 - 0,35x^3 + 0,01x^4$$

$$a_w = 0,96: y = -0,09 - 3,64x + 3,36x^2 - 0,35x^3 + 0,01x^4$$

$$a_w = 0,92: y = -0,40 - 1,18x + 0,80x^2 - 0,01x^3 + 0,003x^4$$

$$a_w = 0,90: y = -0,28 - 0,77x + 0,12x^2 + 0,003x^3 + 0,001x^4$$

$$a_w = 0,87: y = 0,50 - 2,10x + 0,74x^2 - 0,065x^3 + 0,002x^4$$



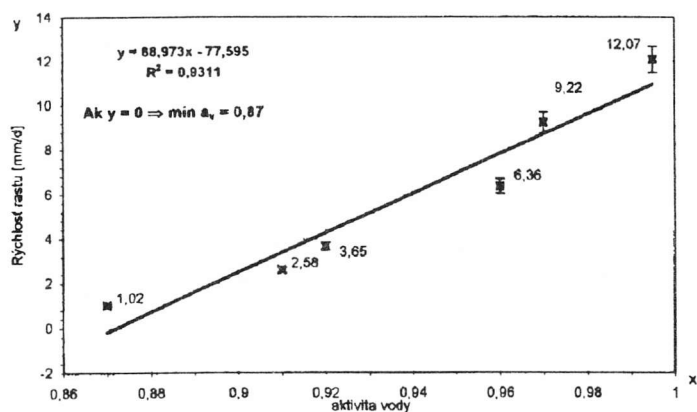
pôvodnej  $a_v = 0,995$ , ešte ďalších päť hodnôt: 0,97; 0,96; 0,92; 0,91 a 0,87. Pre druhý variabilný parameter média, pH-hodnotu, boli okrem pôvodnej pH = 5,0 zvolené ďalšie tri: 6,0; 7,0 a 8,0. Štandardnou suspenziou spór naočkované médiá boli inkubované 16 dní pri  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  a odčítanie priemerov kolónií sa robilo v jednoduchých intervaloch. Merania boli urobené paralelne v troch radoch a z nameraných priemerov sa vypočítali ich stredné hodnoty, ktoré sa tabelizovali.

Výsledky týchto meraní predovšetkým ukazujú, že priemery kolónií, čiže rýchlosti rastu neboli významne závislé od pH-hodnoty média a to v rozmedzí pH = 5 až 8 (tab. 5.).

Naproti tomu, závislosť rýchlosti rastu kolónií *P. roqueforti* od  $a_v$ -hodnoty média bola významná. Na grafickom znázornení (obr. 2) rastových kriviek (pri jednej pH - hodnote = 5), je vidno, že od  $a_v = 0,995$  po 0,87 rastová rýchlosť klesala.

Praktik alebo výskumník si môže položiť otázku, aký vplyv by na rast kolónií *P. roqueforti* mala napr.  $a_v$ -hodnota 0,94, pre ktorú neboli robené konkrétne merania. Odpoveď na túto otázku by mohli dať ďalšie časovo a materiálno náročné experimenty alebo využitie možností prediktívnej mikrobiológie.

Na tento účel boli v prvom kroku na základe experimentálne zistených priemerov kolónií vypočítané regresné rovnice štvrtého stupňa, ktoré matematicky vyjadrujú priebeh rastových kriviek pri každej zvolenej aktivite vody. Ďalej sa z experimentálne stanovených alebo vypočítaných rastových čiar *P. roqueforti* vypočítali rýchlostné konštanty rastu  $k$ . V druhom kroku modelovania sa definoval vplyv aktivity vody a pH-hodnoty na vypočítané rýchlostné konštanty. Vplyv týchto dvoch faktorov bolo možné graficky znázorniť



Obr.3. Priemerná rýchlosť rastu kolónií *P. roqueforti* PR3 v závislosti od  $a_v$ -hodnoty média pri pH 5,0 až 8,0 a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Fig.3. Average growth rate of *Penicillium roqueforti* PR3 in dependence on  $A_w$ -value at pH = 5,0 to 8,0 and temperature of  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ .  
(Rýchlosť rastu - growth rate, if  $y = 0 \Rightarrow \min A_w = 0,87$ ).

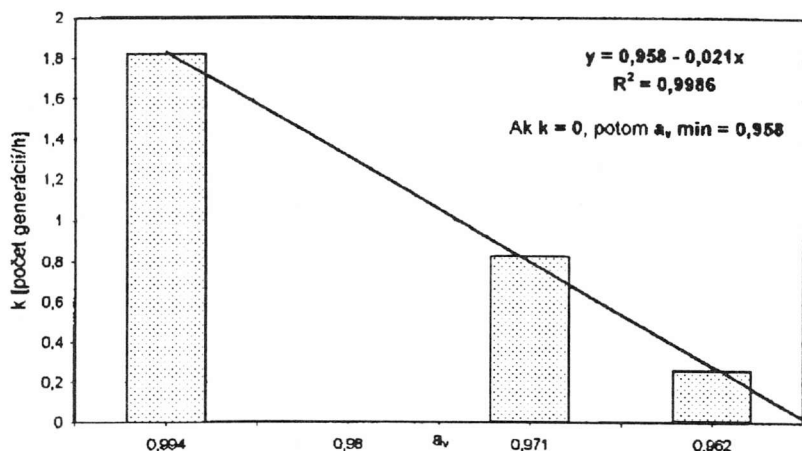
aj spôsobom demonštrovaným na obr.3. Na grafe je opäť vidno, že rast kolónií *P. roqueforti* bol od pH-hodnoty prakticky nezávislý. Naproti tomu závislosť od  $a_v$ -hodnoty média bola významná a mohli sme ju charakterizovať vysoko významným korelačným koeficientom  $R^2 = 0,9311$ . Na prezentovanej obecnej čiare závislosti rýchlosti radiálneho rastu kolónií *P. roqueforti* sa pre otázku  $a_v$ -hodnotu 0,94 dá odčítať priemer pre ňu príslušný, ktorý by bol ekvivalentný radiálnemu rastu kolónie 6 mm za deň. Z priebehu regresnej čiary a jej priesečníku s osou x, môžeme odčítať aj minimálnu  $a_v$ -hodnotu pre rast *P. roqueforti*, ktorou bola v tomto prípade  $a_v = 0,87$ . Jej dosadením do skôr uvedenej rovnice pod a McMeekina (1987) na výpočet rastového faktoru  $\gamma$  môžeme vypočítať inhibičný vplyv napríklad zníženej  $a_v$ -hodnoty na rastovú rýchlosť testovaného mikroorganizmu. Vychádzajúc už zo spomenutej  $a_v = 0,94$ , by táto znížená hodnota mala mieru rastu mikroorganizmu potlačiť na 0,54 jednotky z rastu v optimálnom prostredí, pretože  $\gamma(a_v) = 0,54$ . Tento teoreticky vypočítaný rastový faktor *P. roqueforti*  $\gamma(a_v)$  bol v dobrej zhode s faktorom množenia  $\gamma$  vypočítaným na základe podielu rastovej rýchlosti *P. roqueforti* vyplývajúcej z regresnej priamky pre  $a_v = 0,94$  ku rastovej rýchlosti v optimálnom prostredí ( $\gamma = 0,54$ ).

Tento modelový pokus a matematicko-štatistické spracovanie jeho výsledkov, poukázal na možnosť modelovania vplyvu dvoch nezávisle premenných na rast kolónií *P. roqueforti*.

### Závislosť rýchlosti rastu (množenia) *Lactococcus lactis* LF 416 od aktivity vody

*Lactococcus lactis* je mliekárensky významné kokovité grampozitívne baktérium mliečného kysnutia s optimálnou teplotou 28 až 30 °C. V mlieku produkuje 0,7 % kyseliny mliečnej. Technicky sa využíva v bakteriálnych kultúrach pri výrobe syrov s nízko-dohrievanou syrovinou. Podľa údajov pracovníkov Výrobne čistých mliekarenských kultúr a.s. Milcom Praha, kmeň 416 sa vyznačuje zvýšenou odolnosťou voči obsahu soli v prostredí.

Zaujímali nás v  $a_v$ -hodnotách kvantifikovateľný vzťah tohoto mikroorganizmu k obsahu NaCl v médiu. Pri príslušných experimentoch sme v zásade pokračovali, ako bolo uvedené pri *P. roqueforti*. Rozdiel bol v meraní rastu buniek a ich zhlukov. Toto sme robili mikroskopickou metódou po zafarbení preparátov metylénovou modrou podľa Lewina a Blacka [10]. Z takto získaných rastových čiar v optimálnom mliečnom médiu s  $a_v$ -hodnotou 0,994 a v rovnakom médiu, v ktorom bola  $a_v$ -hodnota upravená prídavkom NaCl na  $a_v = 0,971$  a 0,962, bola vypočítaná a na obr.4 znázornená lineárna závislosť charakterizovaná rovnicou  $y = 0,958 - 0,021x$ . Z tejto je vidieť, že minimálna aktivita vody pre tento organizmus bola  $a_v = 0,958$ , čo zodpovedá 7 až 8 % NaCl v prostredí. Vo vodnej fáze syrov uvažovaného typu býva 3 až 5 % NaCl, čo zodpovedá aktivite vody  $a_v = 0,98$  až 0,97. Meraním



Obr. 4. Závislosť rýchlosti rastu *Lactococcus lactis* LF416 od  $a_v$ -hodnoty mliečného média upravenej s NaCl pri  $30 \pm 1^\circ \text{C}$ .

Fig. 4. Growth rates of *Lactococcus lactis* LF 416 in dependence on water activity of milk medium adjusted with NaCl at  $30 \pm 1^\circ \text{C}$ . (k - number of generations)

závislosti rastu (množenia) *Lactococcus lactis* od aktivity vody média sa potvrdilo, že testovaný kmeň *Lactococcus lactis* LF 416 sa skutočne vyznačuje zvýšenou odolnosťou voči obsahu NaCl v prostredí. Opäť sa potvrdila linearita závislosti rastu mikroorganizmov od aktivity vody prostredia.

### Možnosti „predpovednej mikrobiológie“

Predpovedná mikrobiológia umožňuje zníženie mikrobiologického rizika (hygienické, zdravotné) u rýchlo sa kaziacich potravín pomocou určenia vnútorných a vonkajších ovládateľných podmienok (faktorov) rastu a metabolizmu zúčastnených mikroorganizmov.

Konkrétnymi mikrobiologickými analýzami získané výsledky vplyvov podmienok prostredia na rastové konštanty určitých mikroorganizmov alebo ich skupín uskutočnenými na definovaných médiách sa sumarizujú a adaptujú do matematických vzťahov (rovníc). Interpoláciou nových definovaných podmienok prostredia pomocou týchto vzťahov (rovníc) sa získa predpoveď ich odozvy v novom prostredí, ktoré nebolo mikrobiologickými metódami testované.

Rovnice pre rôzne podmienky prostredia a rôzne odozvy mikrobiálneho rastu a metabolizmu sú pre do úvahy prichádzajúce choroboplodné baktérie uložené napr. v databáze FOOD MICROMODEL Ministerstva poľnohospodárstva Veľkej Británie [4].

Postupy predpovednej mikrobiológie ďalej umožňujú:

- Predpovedať následky zmeneného prostredia na trvanlivosť a hygienickú bezpečnosť požívatín. Pomocou nich je možné navrhnúť vhodnú úpravu podmienok prostredia vzhľadom na zabezpečenie trvanlivosti a hygienickej neškodnosti novo-vyvinutého produktu.
- Objektívne odhadnúť a stanoviť podmienky technologických operácií pri výrobe určitého produktu s ohľadom na mikrobiologické požiadavky systému HACCP.
- Objektívne odhadnúť následky možnej odchýlky parametrov (podmienok) technologickej operácie v procese opracovania a spracovania ako aj skladovania na mikrobiologický chýlostivý produkt.

## Literatúra

1. MOSSEL, D. A. A.: Microbiology of Foods. 2. vyd., Utrecht, 1977.
2. SNYDER, P. P.: Developing a total quality management. 1. vyd., St. Paul, Minnesota, 1993.
3. MONOD, J.: Annu. Rev. Microbiol., 3, 1949, s.371.
4. ROSS, T. - McMEEKIN, T.A.: Int. J. Food Microbiol., 23, 1994, s.241.
5. BUCHANAN, R. L.: Trend in Food Sci. and Technol., 4, 1993, s.6.
6. MÉSZÁROS, L. - RÖDEL, W. - GLEICH, B.: Fleischwirtschaft, 74, 1994, s.241.
7. BETINA, V. - NEMEC, P.: Všeobecná mikrobiológia. 1. vyd., Bratislava, 1977.
8. ZWIETERING, M. M. - WIJTEZES, T. - DeWIT, J. C. - VAN'T RIET, K.: J. Food Protection, 55, 1992, s.973.
9. McMEEKIN, T. A. - CHANDLER, R. E. - DOE, P. E. - GARAND, C. D. - OLLEY, J. - PUTRO, S. - RATKOWSKI, D. A.: J. Appl. Bacteriology, 62, 1987, s.543.
10. GÖRNER, F. - ILAVSKÁ, E. - VOLLEK, V. - JANČEKOVÁ, J.: Mikrobiológia mlieka a tukov. 2. vyd., Bratislava, 1983.

Do redakcie došlo 13.7.1995.

## Predictive microbiology

LUBOMÍR VALÍK - FRIDRICH GÖRNER

SUMMARY. Predictive microbiology deals with microbial behaviour effected by intrinsic and extrinsic food environmental factors. Mathematical and statistical modeling of growth and metabolic activities based on growth rates provides possibility to decrease microbiological hazard of fast food spoilage.

This contribution presents some results of mathematical growth modelling of *Penicillium roqueforti*, strain PR3 regarding water activity and pH - value of growth environment as well as *Lactococcus lactis* LF 416 considering water activity.