

## Inhibícia modelových mikroorganizmov údiacim preparátom UTP-1

BERNADETTA HOZOVÁ—VLADIMÍR SMIRNOV—LADISLAV STARÚCH—  
JOZEF RAPANT

**Súhrn.** V práci sa študoval inhibičný účinok kvapalného údiaceho preparátu UTP-1 na vybrané druhy mikroorganizmov (baktérie, kvasinky, plesne), ktoré môžu pozitívne i negatívne ovplyvniť zrecie procesy mäsových výrobkov. V modelových pokusoch sa použila semikvantitatívna dvojrozmerná agarová difúzna metóda. Inhibičný účinok kvapalného údiaceho preparátu UTP-1 sa sledoval v koncentráciách fenolov od 50 do 160 mg . kg<sup>-1</sup>. Testovaný UTP-1 mal na baktérie (*B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *L. plantarum*) mikrobičné účinky, na kvasinky (*C. utilis*, *S. cerevisiae*, *S. uvarum*) nevykazoval žiadne alebo minimálne inhibičné účinky pri nižších koncentráciách fenolov (50 mg . kg<sup>-1</sup>), pri vyšších koncentráciách (100 mg . kg<sup>-1</sup>) bol účinok výrazný. Účinok údiaceho preparátu na plesne (*P. chrysogenum*, *P. purpurogenum*, *A. niger*) bol mikrobistatický, s čím treba v technológii výroby počítať (spofahlivé výsledky sa dosiahli len testovaním *P. chrysogenum* pri všetkých skúmaných koncentráciách UTP-1).

Údenie je dôležitý technologický proces pri výrobe mäsových a iných potravinárskych výrobkov. Cieľom je v prvom rade priaznivo ovplyvniť chuť a vôňu, ako aj celkovú chutnosť výrobkov a zvýšiť ich uchovateľnosť. Tradičné údenie dymom sa v niektorých prípadoch nahrádza aplikáciou údiacich preparátov, ktorá zjednodušuje technologický proces a hygienickú kvalitu výrobkov. V poslednom čase vo svete i u nás sa stále viac používa technológia tepelne neošetrených fermentových trvanlivých výrobkov, ktoré majú vyššiu biologickú hodnotu a skladovateľnosť. Pri ich výrobe sa používajú mikrobiálne štartovacie kultúry, ktoré priaznivo ovplyvňujú technologické a zrecie procesy. Údiace preparáty svojim zložením ovplyvňujú aktívnu mikroflóru v technologickom procese, preto je dôležité skúmať mechanizmus ich účinku v celom spektre mikroorganizmov. Analýza údiacich preparátov sa zakladá na poznávaní „aktívnych skupín“ preparátov dymu — fenolov, organických kyselín, karbonylových zlúčenín a na

---

RNDr. Bernadetta Hozová, CSc., Ing. Vladimír Smirnov, CSc., Ing. Ladislav Starúch, Ing. Jozef Rapant, Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

stanovení přítomnosti karcinogénných polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU). Důležitý je preto optimálny obsah aktívnych látok a neprítomnosť PAU látok [1], čo závisí od spôsobu výroby a od legislatívnych požiadaviek tej-ktorej krajiny, kde sa preparát aplikuje. Dosiaľ je známe použitie údiacich kvapalín v Japonsku, Francúzsku, Maďarsku, Poľsku, Kanade a SNŠ [1, 2]. Najčastejšie používaný spôsob aplikácie je priame vmiešanie údiacich preparátov do diela počas kutrovania [2, 3].

V ČSFR je v súčasnosti povolený údiaci preparát vyvinutý na Katedre sacharidov a konzervácie potravín CHTF STU pod označením UTP-1 [4], vyrobený z ľahšej frakcie rafinovaného surového drevného dechtu získaného zo suchej destilácie prírodného bukového dreva (I. akost), neošetrovaného pesticídmi a konzervačnými prísadami. Aplikuje sa priamo do diela mäsových výrobkov, a to v množstve podmienenom požiadavkou aromatického účinku danou koncentráciou fenolov v g. kg<sup>-1</sup> výrobku.

Predmetom tejto štúdie bolo, zatiaľ modelovo zistiť inhibičný účinok UTP-1 na mikroflóru, ktorá sa môže nachádzať v mäsových výrobkoch s cieľom posúdiť technologický význam a vplyv UTP-1 pri jeho aplikácii v technologickom procese. Pri použití semikvantitatívnej metódy sa nám podarilo v tejto prvej fáze získať orientačné údaje o inhibičnom účinku preparátu UTP-1 na vybrané druhy mikroorganizmov (baktérie, kvasinky a plesne).

### Materiál a metódy

#### Použité mikroorganizmy

*Bacillus subtilis* CCP 1997  
*Pseudomonas aeruginosa* PS 133/89  
*Escherichia coli* M 200  
*Lactobacillus plantarum* ATCC 8014  
*Candida utilis* sp.  
*Saccharomyces cerevisiae* 15-1-416  
*Saccharomyces uvarum* 4228 ATCC 9080  
*Penicillium chrysogenum* 21-50 UK  
*Penicillium purpurogenum* CCM F-257  
*Aspergillus niger* sp.

Kmene boli získané zo zbierky mikroorganizmov Katedry mikrobiológie, biochémie a biológie CHTF STU, zo zbierky mikroorganizmov VÚPP Praha a MU Brno buď v natívnej, buď sublimačne sušenej forme.

## Živé pôdy

GTK agar [5], pre *B. subtilis* a *P. aeruginosa*

GKCH agar [6], pre *S. uvarum*, *S. cerevisiae*, *C. utilis*, *P. purpurogenum*,  
*P. chrysogenum*

Mac Conkey agar [7], pre *E. coli*

MRS agar [8], pre *L. plantarum*

Údiaci kvapalný preparát UTP-1 [4]. Aplikáciu povolil hlavný hygienik ČSFR (1989), musí spĺňať požiadavky na fyzikálne, chemické, senzorické a mikrobiologické vlastnosti, zakotvené v príslušných normách (ČSN 56 9801). Vyrába sa vo forme vodného roztoku a dávkuje sa maximálne do 12 000 mg fenolov na 1 kg údiaceho preparátu.

Semikvantitatívna dvojrozmerná agarová difúzna metóda sa uvádza v literatúre [9] ako jedna zo základných a najrozšírenejších metód na stanovenie citlivosti mikroorganizmov na antibiotiká, chemoterapeutiká a iné látky a preto sme ju použili aj na našom pracovisku. Uvedená metóda je založená na difúzii skúmanej látky do agaru naočkovanej citlivými mikroorganizmami. Účinky skúmanej látky na rastúce mikroorganizmy sa prejavujú tvorbou inhibičných zón, čo indikuje citlivosť alebo rezistenciu vybraného druhu mikroorganizmu. Meria sa priemer inhibičných zón (v mm).

*Pracovný postup.* Na povrch živnej agarovej pôdy v Petriho miske sa naočkuje 0,2–0,5 ml suspenzie mikroorganizmov. Inokulum sa rovnomerne rozočkuje zahnutou tyčinkou po celom povrchu agarovej platne. Po vsiaknutí suspenzie sa pomocou sterilného korkovrtu ( $\varnothing$  0,8 cm) a sterilnej pinzety vyrezali do agaru v Petriho miske 4 kruhové otvory, do ktorých sme sterilnou mikropipetou nanášali údiaci preparát UTP (80  $\mu$ l) v zvolených koncentráciách fenolov (160, 120, 100, 80, 50 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>). Misky sa inkubovali pri požadovanej teplote a čase pre jednotlivé druhy mikroorganizmov. Pri hodnotení výsledkov sa posudzoval rast mikrobiálnej kultúry pri daných podmienkach inkubácie a veľkosť inhibičných zón meraná merítkom v dvoch na seba kolmých priamkach. Výsledky meraní pre 3–5 Petriho misiek so 4 otvormi (t. j. 12–20 paralelných stanovení) sa štatisticky vyhodnotili a sú zhrnuté v tab. 1 a 2.

## Výsledky a diskusia

Výsledky vyhodnotenia účinku kvapalného údiaceho preparátu UTP-1 proti vybraným druhom mikroorganizmov uvádza tab. 1 (pre baktérie) a tab. 2 (pre kvasinky a plesne). Vo všetkých experimentoch sa paralelne robil slepý pokus, kde sa do vyrezaného otvoru namiesto údiaceho preparátu pipetovala redestilovaná voda (80  $\mu$ l).

# 1. Účinok údiaceho preparátu UTP-1 na baktérie

a) *Bacillus subtilis*. Z tab. 1 vidieť, že inhibičný účinok preparátu UTP-1 na *Bacillus subtilis* sa zvyšuje so stúpajúcou koncentráciou (interval od 17,7 do 24,1 mm). Z toho vyplýva, že aj pri minimálnej použitej koncentrácii údiaceho preparátu (50 mg fenolov. kg<sup>-1</sup>) aplikovaného do mäsového výrobku treba rátať s inhibičným účinkom na *B. subtilis*. (Koncentrácia UTP-1 120 mg. kg<sup>-1</sup> nebola testovaná.)

b) *Pseudomonas aeruginosa*. Z tvaru inhibičných zón ostro ohraničených a dobre merateľných (11,2—17,5 mm) sa dalo usúdiť, že účinok údiaceho preparátu UTP-1 bol baktericídny a že aj minimálna aplikovaná koncentrácia fenolov (50 mg. kg<sup>-1</sup>) inhibuje testovaný mikroorganizmus, bežne sa vyskytujúci v mäsových výrobkoch.

c) *Escherichia coli*. Veľkosť inhibičných zón sa pohybovala od 11,0 do 14,9 mm, údiaci preparát UTP-1 bol účinný aj v minimálnej použitej koncentrácii (baktericídny účinok). Inhibičné zóny boli dobre merateľné.

d) *Lactobacillus plantarum*. Ako je známe, tento mikroorganizmus je dôležitou súčasťou štartovacích kultúr ovplyvňujúcich priebeh zrecích procesov pri fermentácii mäsových výrobkov. Má preto veľký význam poznať vplyv testovaného údiaceho preparátu na rast a rozvoj tohto mikroorganizmu.

Tabuľka 1. Veľkosť inhibičných zón [mm] údiaceho preparátu UTP-1 pre baktérie  
Table 1. Inhibition zones length [mm] of smoking preparation UTP-1 for bacteria

Konc. UTP-1 <sup>1</sup> [mg. kg <sup>-1</sup> ]	Inhibičné zóny <sup>2</sup> [mm]											
	<i>B. subtilis</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>E. coli</i>			<i>L. plantarum</i>		
	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>s<sub>r</sub></i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>s<sub>r</sub></i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>s<sub>r</sub></i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>s<sub>r</sub></i>
	( <i>n</i> = 5)		[%]	( <i>n</i> = 3)		[%]	( <i>n</i> = 3)		[%]	( <i>n</i> = 3)		[%]
160	24,1	0,758	3,2	17,5	0,866	4,9	14,9	0,144	1,0	nemerateľné <sup>3</sup>		
120	—	—	— <sup>a</sup>	15,8	0,353	2,2	13,3	0,52	3,9	19,0	0	0
100	20,0	0	0	14,3	1,299	9,1	12,8	0,38	3,0	17,8	0,25	1,4
80	18,7	0,326	1,7	13,1	1,944	14,8	11,7	0,57	5,0	15,8	0,5	3,2
50	17,7	0,325	1,8	11,2	0,288	2,6	11,0	0	0	12,2	0,288	2,4
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a — neanalyzované; Non-analysed.

<sup>1</sup>UTP-1 concentration; <sup>2</sup>Inhibition zones length; <sup>3</sup>Non-detectable.

Ako výplýva z výsledkov analýz v tab. 1, účinok údiaceho preparátu UTP-1 sa sledoval v 5 koncentráciách. Pri maximálnej koncentrácii 160 mg. kg<sup>-1</sup> bol jeho účinok natoľko intenzívny, že vzniknuté inhibičné zóny sa navzájom prekryvali (nemerateľné). Pri ostatných koncentráciách údiaceho preparátu tvar a veľkosť zón (12,2 až 19 mm) boli výrazné.

Z výsledkov vyplynulo, že údiaci preparát UTP-1 má na *L. plantarum* bakteriálny účinok, a tak jeho prídavok do mäsového diela spolu so štartovacou kultúrou bude do určitej miery inhibovaný údiacim preparátom.

## 2. Účinok údiaceho preparátu UTP-1 na kvasinky a plesne

a) *Candida utilis*. V tomto prípade sa zvolili 4 koncentrácie údiaceho preparátu UTP-1 s hornou hranicou 100 mg fenolov . kg<sup>-1</sup> ako optimom odporúčanej koncentrácie s logickým predpokladom inhibičného účinku aj pri vyšších koncentráciách. Veľkosť inhibičných zón (tab. 2) variovala v rozmedzí od 16,7 do 22,4 mm a bola významná aj pri spodnej hranici koncentrácie fenolov 50 mg . kg<sup>-1</sup>.

b) *Saccharomyces cerevisiae*. Pri dolnej hranici fenolov 50 mg . kg<sup>-1</sup>, ako vyplýva z tab. 2, boli inhibičné zóny nevyhodnotiteľné, vo vyšších zvolených koncentráciách mali priemer 14,9 až 23,8 mm.

c) *S. uvarum*. UTP-1 mal výrazný inhibujúci účinok, rozdiel vo veľkosti inhibičných zón pri jednotlivých koncentráciách bol významný.

d) *Penicillium chrysogenum*, *P. purpurogenum*, *Aspergillus niger*. Citlivosť *P. chrysogenum* na údiaci preparát UTP-1 sme skúmali aj pri maximálnej koncentrácii 160 mg . kg<sup>-1</sup>, a výsledky uvedené v tab. 2 sa dosiahli až pri riedení suspenzie mikroorganizmov 10<sup>-2</sup> (nižšie riedenie bolo prerastené). Štatistické vyhodnotenia svedčia o tom, že výsledky boli bez rozptylu. UTP-1 mal v tomto prípade mikrobistatický účinok.

Účinok údiaceho preparátu proti *P. purpurogenum* a *A. niger* nebolo možné vyhodnotiť objektívne, nakoľko sa zaznamenali veľké rozdiely v dynamike rastu, preto ich v tabuľkách neuvádzame.

Tabuľka 2. Veľkosť inhibičných zón [mm] údiaceho preparátu UTP-1 pre kvasinky a plesne  
Table 2. Inhibition zones length [mm] of smoking preparation UTP-1 for yeasts and moulds

Konc. UTP-1 <sup>1</sup> [mg . kg <sup>-1</sup> ]	Inhibičné zóny <sup>2</sup> [mm]											
	<i>C. utilis</i>			<i>S. cerevisiae</i>			<i>S. uvarum</i>			<i>P. chrysogenum</i>		
	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>s<sub>r</sub></i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>s<sub>r</sub></i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>s<sub>r</sub></i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>s<sub>r</sub></i>
	( <i>n</i> = 5)		[%]	( <i>n</i> = 3)		[%]	( <i>n</i> = 4)		[%]	( <i>n</i> = 3)		[%]
160	—	—	— <sup>a3</sup>	—	—	— <sup>a</sup>	—	—	— <sup>a</sup>	20,0	0	0
120	—	—	— <sup>a</sup>	—	—	— <sup>a</sup>	—	—	— <sup>a</sup>	18,0	0	0
100	22,4	0,381	1,7	23,8	0,144	0,61	24,8	0,50	2,0	17,0	0	0
80	19,8	0,144	0,7	14,9	0,144	0,967	16,0	0,20	1,3	15,0	0	0
50	16,7	0,520	3,1	—	—	—	12,2	0,24	1,9	12,0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

For explanations see Table 1.

Celkove možno konštatovať, že vo vymedzenom spektre dostupných testovaných mikroorganizmov mal údiaci preparát UTP-1 v skúmanom koncentračnom rozsahu inhibičný účinok. Naše orientačné výsledky sú podkladom pre ďalšie štúdium citlivosti širšieho spektra mikroorganizmov s dôrazom na mikroorganizmy pozitívne ovplyvňujúce technologický proces výroby [10].

## Literatúra

1. HOREŠ, P.: Vplyv údiacich preparátov UTP na stabilitu lipidov. Diplomová práca. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta STU 1987, 75 s.
2. DUBRAVICKÝ, J.—SMIRNOV, V.—SUROVÁ, E., In: Zborník referátov z konferencie Aditívne látky v poživatinách, B. Bystrica, 1982, Bratislava, SSPLPV, 1985, s. 95.
3. SMIRNOV, V.—DUBRAVICKÝ, J.—TAKÁCSOVÁ, M., In: Zborník referátov z konferencie Aditívne látky v poživatinách, B. Bystrica 1982, Bratislava, SSPLPV 1985, s. 82.
4. PND 69 19338, Údiaci tekutý preparát UTP-1-Hnúšťa, 1989, 10 s.
5. ČSN 56 0083, Stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů plotnovou metodou. Praha, ÚNM 1986, 8 s.
6. ČSN 56 0087, Stanovení počtu kvasinek a plisní. Praha, ÚNM 1986, 8 s.
7. ČSN 56 0085, Stanovení počtu koliformních bakterií plotnovou metodou. Praha, ÚNM 1986, 12 s.
8. ČSN 56 0094, Stanovení počtu laktobacilů. Praha, ÚNM 1988, 7 s.
9. BETINA, V.: Chémia a biológia antibiotik. Bratislava, Veda 1981, 483 s.
10. ZLÁMALOVÁ, J.: Aplikace startovacích kultur při produkci nových druhů fermentovaných masných výrobků. Brno, VÚMP 1986.

Do redakcie došlo 10. 2. 1992

## Inhibition of model microorganisms by smoking preparation UTP-1

### Summary

Effect of inhibition of liquid smoking preparation UTP-1 on chosen microorganisms species (bacteria, yeasts, moulds), which can positively or negatively influence of meat, products, were investigated in this paper. In model experiments, semi-quantitative two-dimensional agar diffusion method has been utilized. Inhibition effect of liquid smoking prepareate UTP-1 was investigated at phenol concentrations ranging from 50 to 160 mg. kg<sup>-1</sup>. Tested UTP-1 showed microbicidal effects on bacteria (*B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *L. plantarum*), and showed no or minimum effects of inhibitions at lower phenol concentrations (50 mg. kg<sup>-1</sup>), at higher phenol levels (100 mg. kg<sup>-1</sup>), the effect was marked. Smoking preparation effect on moulds (*P. chrysogenum*, *P. purpurogenum*, *A. niger*) was microbistatic, which must be taken into account in production technology (reliable results were achieved only by testing of *P. chrysogenum* at all investigated concentrations of UTP-1).

## Ингибция модельных микроорганизмов копильным препаратом УТП-1

### Резюме

В работе изучалось ингибирующее действие жидкого копильного препарата УТП-1 на избранные штаммы микроорганизмов (бактерии, дрожжи, грибки), которые положительно и отрицательно могут влиять на процесс созревания мясных продуктов. В модельных опытах был использован семиквантитативный двухразмерный диффузионный метод. Ингибирующее влияние жидкого копильного препарата УТП-1 наблюдалось в концентрациях фенолов с 50 до 160 мг · кг<sup>-1</sup>. Испытанный УТП-1 имел на бактерии (*B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *L. plantarum*) микробицидное действие, на дрожжи (*C. utilis*, *S. cerevisiae*, *S. uvarum*) не оказывал никакого или минимальное ингибирующее влияние при низших концентрациях фенолов (50 мг · кг<sup>-1</sup>), при высших концентрациях (100 мг · кг<sup>-1</sup>) было влияние четкое. Действие копильного препарата на грибки (*P. chrysogenum*, *P. purpurogenes*, *A. niger*) было микробистатичным, с чем надо в производственной технологии рассчитывать (надежные результаты были достигнуты только при проверках *P. chrysogenum* при всех опробованных концентрациях УТП-1).