

Aktivita vody, vlhkosť a rast *Staphylococcus aureus* pri sušení cestovín

LUBOMÍR VALÍK—FRIDRICH GÖRNER

Súhrn. Aktivita vody (a_v) klesala pri sušení cestoviny v závislosti od času lineárne. V cestovine umelo kontaminovanej dvoma kmeňmi *S. aureus* sa kmeň izolovaný z inej komerčnej cestoviny ihneď rozmnožoval, ale stacionárnu fázu dosiahol už pri $a_v = 0,93$. Zbierkový kmeň, používaný v laboratóriu na skúmanie rezistencie stafylokokov na antibiotiká, dosiahol stacionárnu fázu pri hodnote $a_v = 0,86$, čo zodpovedá údajom v literatúre.

Mikroorganizmy potrebujú pre svoju látkovú premenu a množenie vodu. Sušenie alebo iný spôsob dehydratácie spôsobuje preto spomalenie až zastavenie ich rastu a metabolizmu a u niektorých až devitalizáciu [1]. Obsah vody limitujúci životné prejavy je v rôznych požívatinách aj u rovnakých mikroorganizmov rôzny. Tento jav vyplýva zo skutočnosti, že voda je v požívatinách viazaná rôznym spôsobom a ani pri rovnakom obsahu nie je zhodne využiteľná mikroorganizmami. Väzbú vody vo forme nevyužiteľnej mikróbami spôsobujú najmä soli, sacharidy a bielkoviny [2].

Aktivita vody (a_v) je parametrom, ktorý je pre rôzne poživatiny bez ohľadu na ich zloženie, z hľadiska životných prejavov mikroorganizmov rovnaká a nezávislá od aktuálneho obsahu vody stanoviteľného sušením do konštantnej hmotnosti. Parameter a_v je úmerný osmotickému tlaku v poživatine. Je merateľný stanovením parciálneho tlaku vodnej pary (relatívnou vlhkosťou) nad skúmanou poživatinou:

$$a_v = \frac{p}{p_0}$$

kde p_0 je parciálny tlak vodnej pary nad čistou vodou, p — parciálny tlak vodnej pary nad poživatinou.

Ing. Lubomír Valík, prof. Ing. dr. Fridrich Görner, DrSc., Katedra mlieka, tukov a hygieny poživatin, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Aktuálny parciálny tlak vodnej pary nad poživatinou sa meria komparáciou s tlakom vodných pár (relatívnou vlhkosťou) nad definovanými vodnými roztokmi minerálnych látok (NaCl , H_2SO_4 , KNO_3 a i.) po dosiahnutie rovnovážneho stavu medzi roztokom a poživatinou [3, 4]. Čistá voda má a_v hodnotu 1,0. Každý prídavok látky viažúcej vodu (zvyšujúcej osmotický tlak) spôsobuje úmerné znižovanie hodnoty a_v . Optimálna hodnota a_v je pre väčšinu mikroorganizmov $>0,98$. *Staphylococcus aureus* tvorí medzi baktériami výnimku, jeho minimálna hodnota a_v je za normálnych podmienok 0,86 [1].

Stafylokoky, najmä *Staphylococcus aureus*, sa z potravinársko-mikrobiologického hľadiska sledujú najmä v potravinách živočíšneho pôvodu [6]. Avšak s prísadou vajíec sa môžu dostať aj do cestovín [7]. Podľa ČSN 56 0920 (cestoviny) [8] môže byť v tzv. dlhých cestovinách (makaróny, špagety) najvyšší obsah stafylokokov (bez špecifikácie *Staphylococcus aureus*) $1 \cdot 10^3$ KTJ/g (KTJ = = kolónie tvoriace jednotky). V ostatných cestovinách nemajú byť v 1 g dokázateľné oficiálnou metódou.

Uvedené počty stafylokokov v cestovinách sú platné pre hotový komerčný produkt. V ceste na výrobu cestovín sú stanoviteľné významne vyššie počty stafylokokov, vďaka kontaminácii a ich následnému množeniu pri dostatočnej vlhkosti cesta [7]. Cieľom práce bolo zistiť dynamiku narastania počtu stafylokokov v cestovine v závislosti od vlhkosti a aktivity vody pomocou modelových pokusov.

Materiál a metóda

Použitý mikroorganizmus. Pokusy boli robené s dvoma kmeňmi *Staphylococcus aureus*:

— *Staphylococcus aureus* CCM 3953, zbierkový referenčný kmeň na skúmanie rezistencie stafylokokov na antibiotiká,

— *Staphylococcus aureus*, vypestovaný z cestoviny na médiu podľa Baird—Parkerovej [9].

Obidva kmene *S. aureus* boli pred pokusmi podrobené bežným biochemickým testom v rámci súpravy „Staphytest“ (Lachema) a testu plazmakoagulázy (Imuna) s výsledkom potvrdzujúcim ich identitu (Gly +, Suc +, Tre +, Man +, Ure +, VPT +, Phs +, Nit +, Kat +; koaguláza +).

Modelová cestovina. Zmiešaním primeraného množstva múky, sušených vajíec a vody sa pripravilo cesto s počiatočnou vlhkosťou asi 30 % [10]. Kontaminácia modelovej cestoviny so *S. aureus* sa robila suspenziou príslušného kmeňa vo vode použitej na prípravu cestoviny. Suspenzie mali koncentráciu stafylokokov medzi $1,0 \cdot 10^7$ až $2,6 \cdot 10^7$ KTJ/ml. Z kontaminovaného cesta sa pripravili fliačky rozmerov $10 \times 10 \times 2$ mm a ponechali sa na bezprašnom mieste pri

laboratórnej teplote (24—26 °C) voľne schnúť 8 h. V pravidelných intervaloch sa v nich stanovila hodnota a_v , vlhkosť sušenín do konštantnej hmotnosti pri 105 °C [11] a počet stafylokokov zriedovacou metódou na médiu podľa Bairdovej—Parkerovej [12]. Stanovený počet stafylokokov sa vzhľadom na zmeny obsahu vody vo fľačkoch v priebehu sušenia prepočítal na sušinu. Na jedno stanovenie sa použilo 5 g fľačkov, z ktorých sa vo fyziologickom roztoku urobila vhodná suspenzia. Táto suspenzia sa riedila desiatkovým postupom a po 0,5 ml očkovala na dve Petriho misky s médiom. Odčítali sa charakteristické kolónie.

Stanovenie aktivity vody. Hodnota aktivity vody (a_v) sa stanovovala na základe ustálenia rovnovážneho stavu medzi vlhkosťou vzorky a relatívnou vlhkosťou atmosféry nad definovanými roztokmi NaCl za 24 h pri teplote 25 °C v hlavných rysoch podľa Bema a Leistnera [3].

Spracovanie výsledkov. Výsledky vyšetrení boli graficky znázornené a podľa potreby podrobené matematicko-štatistickému hodnoteniu [13].

Výsledky a diskusia

Na obr. 1 vidieť priebeh sušenia cestoviny znázornený pomocou % vlhkosti v závislosti od času sušenia pri laboratórnej teplote. Úbytok aktuálnej vlhkosti, meraný sušením do konštantnej hmotnosti je v závislosti od času nelineárny. Čiara závislosti týchto parametrov je vyjadrená vzťahom:

$$\% = 10,76 + \frac{37,59}{t + 2}, \quad (n = 90),$$

$$r = 0,980, P = 0,0001,$$

$$\% = \text{vlhkosť}, t = \text{čas v h.}$$

Z grafu vidieť, že počiatočná vlhkosť cestoviny 29 ± 1 % pri laboratórnej teplote za 8 h poklesla na 14 ± 1 %.

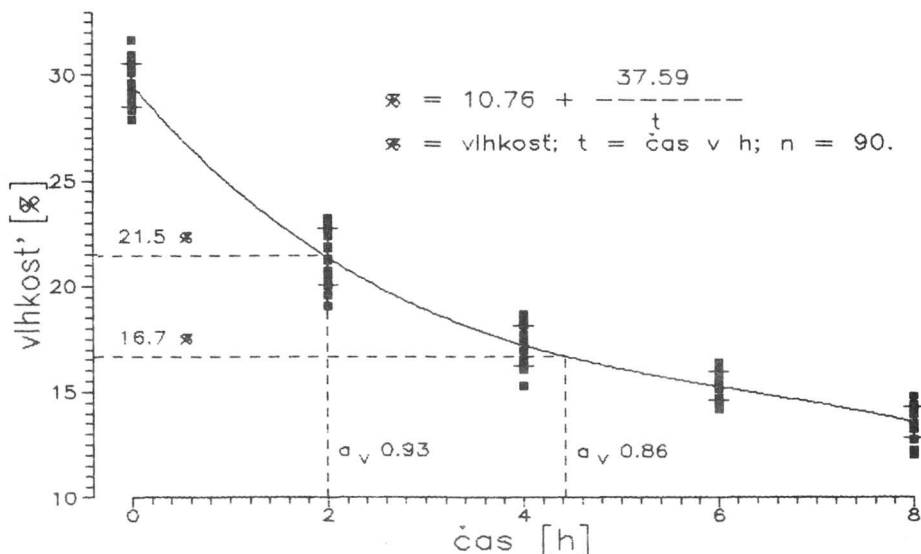
Na obr. 2 je znázornený priebeh sušenia cestoviny vyjadrený pomocou hodnoty a_v v závislosti od času sušenia pri laboratórnej teplote. Úbytok vlhkosti je v tomto prípade lineárny a možno ho vyjadriť vzťahom:

$$a_v = 0,980 - 0,027t, \quad (n = 75),$$

$$r = -0,998, P < 0,0001,$$

$$a_v = \text{aktivita vody}, t = \text{čas v h.}$$

Z grafu vidieť, že počiatočná hodnota a_v cestoviny bola $0,980 \pm 0,009$ a na konci sušenia za 8 h pri laboratórnej teplote $0,77 \pm 0,02$.

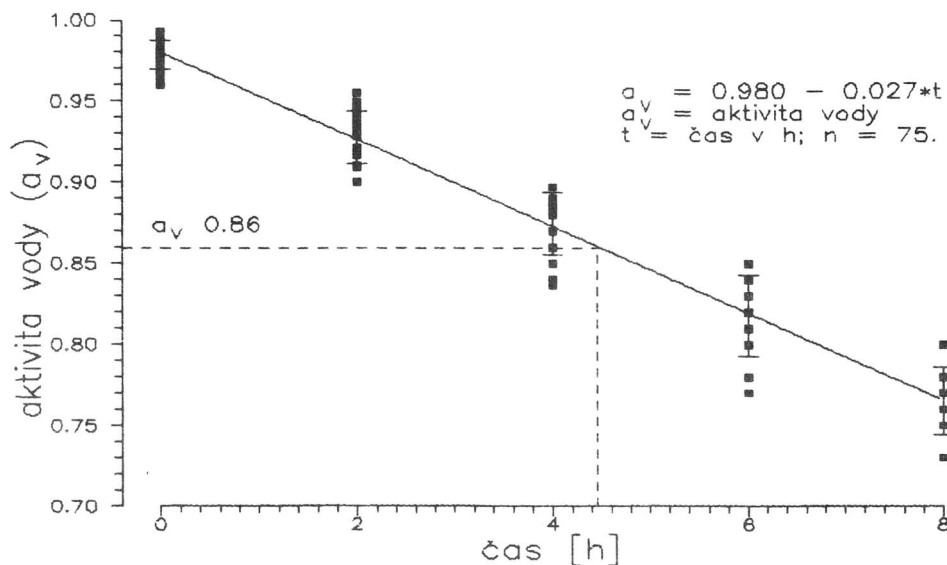


Obr. 1. Priebeh sušenia cestovín pri laboratórnej teplote 24–26°C ($n = 90$) znázornený úbytkom vlhkosti.

Fig. 1. The course of pasta drying at laboratory temperature 24–26°C ($n = 90$) in dependence on the humidity loss.

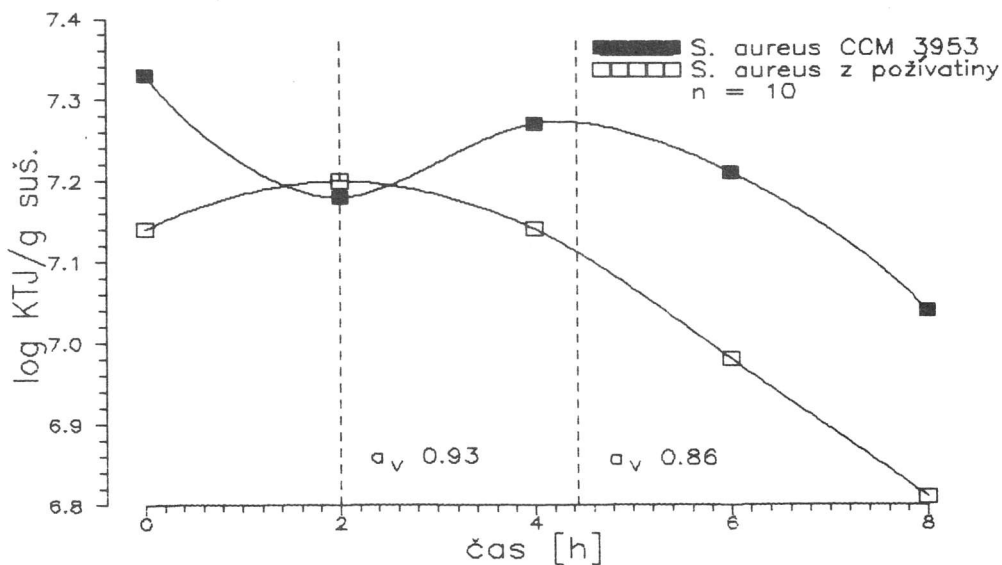
Na obr. 3 je znázornená dynamika nárastu počtov KTJ dvoch kmeňov *S. aureus* v závislosti od času sušenia cestoviny pri laboratórnej teplote. Jednotlivé kmene sa vzhľadom na aktivitu vody chovali odlišne. Zbierkový kmeň *S. aureus* CCM 3953, používaný ako referenčný na skúmanie rezistencie stafylokokov na antibiotiká, po naočkovaní do cesta vo forme vodnej suspenzie 24 h kultúry, sa spočiatku prispôboval novému prostrediu v ceste. Jeho počiatočný počet $2,2 \cdot 10^7$ KTJ/g klesol za dve hodiny v priemere na $1,5 \cdot 10^7$ KTJ/g. Za ďalšie dve hodiny sa zastavil úbytok živých, rozmnožovania schopných buniek a ich priemerný počet v ceste vzrástol na $1,9 \cdot 10^7$ KTJ/g. Medzi štvrtou a piatou hodinou sušenia bola prekročená hodnota $a_v = 0,86$, kritická pre *S. aureus*. U tohto kmeňa *S. aureus* bunky už viac odumierali ako sa množili. Medzi šiestou a ôsmou hodinou, keď a_v hodnota cestoviny bola 0,82 až 0,77, jeho bunky už jednoznačne odumierali.

Bunky *S. aureus* izolované z komerčnej cestoviny sa v počiatočnej fáze sušenia správali odlišne. Ich 24 h kultúra aplikovaná do cesta formou vodnej suspenzie sa v ňom ihneď ďalej rozmnožovala. Počas dvoch hodín pri laboratórnej teplote vzrástol ich počet z $1,4 \cdot 10^7$ na $1,6 \cdot 10^7$ KTJ/g. Na rozdiel od referenčného kmeňa *S. aureus* však bunky tohto kmeňa už od druhej hodiny, t. j. od hodnoty $a_v = 0,93$ viac odumierali ako sa množili. Pri hodnote $a_v = 0,86$ už boli vo fáze jednoznačného odumierania.



Obr. 2. Priebeh sušenia cestovín pri laboratórnej teplote 24—26 °C ($n = 75$) znázornený úbytkom aktivity vody.

Fig. 2. The course of pasta drying at laboratory temperature 24—26 °C ($n = 75$) in dependence on water activity decrease.



Obr. 3. Dynamika obsahu stafylokokov v cestovine pri jej sušení.

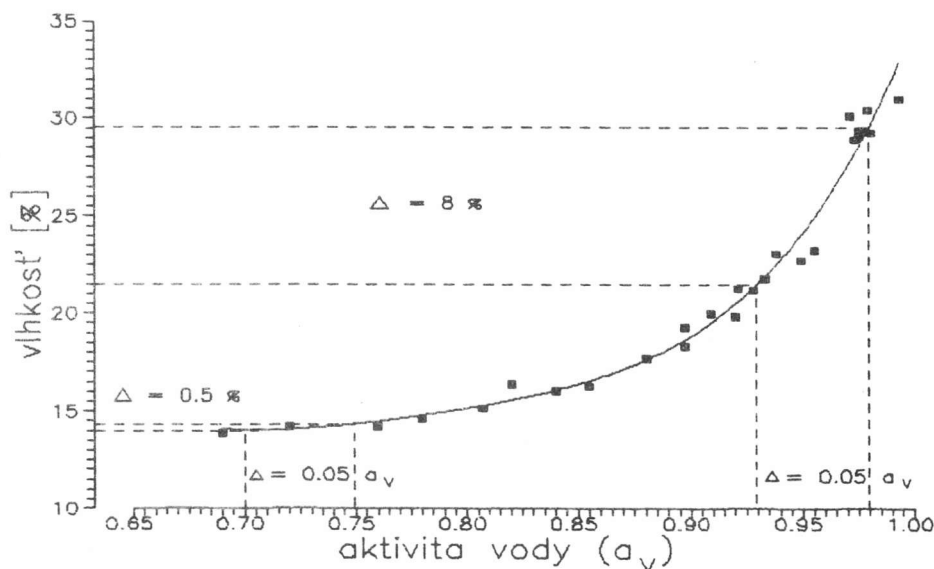
Fig. 3. Dynamics of staphylococcus amount in the pasta during its drying.

Tieto mikrobiologické sledovania priebehu sušenia cestoviny potvrdili všeobecne zvýšenú odolnosť stafylokokov proti nízkym hodnotám a_v . Poukázali ale aj na nie úplne uniformné správanie sa odlišných kmeňov tohto druhu organizmu z hľadiska odolnosti proti semisuchému prostrediu.

U totožného produktu, ktorým je v tomto prípade určitá cestovina, je možné aktuálnu vlhkosť a aktivitu vody porovnávať. Z grafov na obr. 1 a 2 vidieť, že pri aktivite vody cestoviny $a_v = 0,86$, pri ktorej sa referenčný kmeň *S. aureus* prestal množiť, bola priemerná aktuálna vlhkosť cestoviny 16,7 %. Kmeň *S. aureus* izolovaný z komerčnej cestoviny sa prestal množiť pri hodnote $a_v = 0,93$, čo pri tejto konkrétnej cestovine zodpovedalo jej aktuálnej vlhkosti 21,5 %.

Pre cestovinársku prax z týchto výsledkov plyní poučenie, že v technologickom procese sušenia vyformovanej cestoviny je vhodné čo najskôr znížiť aktivitu vody na hodnoty nižšie ako 0,93.

S rozdielnou závislosťou hodnoty a_v a aktuálnej vlhkosti skúmanej cestoviny od času jej sušenia úzko súvisí priebeh čiary jej sorpčnej izotermy (obr. 4). Toto je čiara závislosti aktuálnej vlhkosti od aktivity vody pri totožnom produkte. Na začiatku sušenia cestoviny bol pokles a_v medzi hodnotami 0,98 a 0,93 o 0,01



Obr. 4. Závislosť medzi aktuálnou vlhkosťou a aktivitou vody (a_v) v cestovine pri jej sušení (desorpcii).

Fig. 4. The dependence between the actual humidity and water activity (a_w) at pasta drying (desorption).

jednotky spôsobený úbytkom 1,6 g vody zo 100 g cesta; ku koncu sušenia cestoviny bol pokles a_v o 0,01 jednotky medzi hodnotami 0,75 a 0,70 spôsobený úbytkom 0,1 g vody zo 100 g cesta. Aj táto skutočnosť potvrdzuje údaje viacerých autorov experimentálne pracujúcich s rôznymi potravinami, že voda je aj v cestovinách viazaná rôznymi väzbovými silami, ktoré na ich uvoľnenie vyžadujú odlišné množstvo energie, a preto je odlišne využiteľná rôznymi mikroorganizmami [14—17].

Literatúra

1. VALÍK, L.: Vzťah aktivity vody (a_v) k mikrobiologickej akosti potravín. Odborné minimum. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1989. 65 s.
2. SCHORMÜLLER, J.: Die Erhaltung der Lebensmittel. Stuttgart, F. Enke Verlag 1966. 927 s.
3. BEM, Z.—LEISTNER, L., Fleischwirtschaft, 50, 1970, č. 10, s. 1412—1414.
4. RESNIK, S. L. a kol., J. Food Sci., 49, 1984, s. 510—512.
5. TROLLER, J. A., Food Technol., 34, 1980, č. 5, s. 76—82.
6. ARPAI, J.—BARTL, V.: Potravinárska mikrobiológia. Praha, SNTL 1977. 280 s.
7. GÖRNER, F.—TOMANOVÁ, E.—ROŠKANINOVÁ, N.—BUZINKAYOVÁ, D., Bulletin PV, 27(7), 1988, č. 1—2, s. 129—134.
8. ČSN 56 092. Těstoviny. 1988
9. N.N. a, Sušené živné pôdy. 2. vyd. Šarišské Michaľany, Imuna, n. p.
10. N.N. b, Výroba cestovín — jednotný technologický postup výroby. Cestovinárne Piešťany 1986.
11. PRÍBELA, A.—ŠORMAN, L.—SMIRNOV, V.: Návod na laboratórne cvičenie z analýzy potravín. Bratislava, ES SVŠT 1984. 388 s.
12. ČSN 56 0100. Mikrobiologické zkoušení potravín, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven. 1970.
13. KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: Praktikum technické mikrobiologie. Praha, SNTL 1954. 377 s.
14. GEURTS, T. J.—WALSTRA, P.—MULDER, H., Neth. Milk Dairy J., 28, 1974, s. 46—72.
15. LABUZA, T. P., In: Water Relation of Foods. Ed. R.B. Duckworth. London, New York, San Francisco, Academic Press 1975, s. 155—172.
16. KAREL, M., In: Water Relation of Foods. Ed. R.B. Duckworth. London, New York, San Francisco, Academic Press 1975, s. 639—657.
17. LE MAGUER, M., In: Water Activity: Theory and Applications to Food. New York, Basel, Marcel Dekker Inc. 1987, s. 1—23.

Do redakcie došlo 18. 4. 1991

Активность воды, влажность и рост *Staphylococcus aureus* во время сушки макаронных изделий

Резюме

Активность воды (a_w) понижалась во время сушки макаронных изделий в зависимости от времени линейно. В изделии искусственно загрязненном двумя штаммами *S. aureus*, штамм, изолированный с другого коммерческого изделия начался сразу же размножаться, но стационарную фазу достиг уже при $a_w = 0,93$. Музейный штамм, использованный в лаборатории для изучения сопротивляемости стафилококков к антибиотикам, достиг стационарную фазу при величине a_w такой же, как приводится в литературе, $a_w = 0,86$.

Water activity, humidity and growing of *Staphylococcus aureus* during pasta drying

Summary

Water activity (a_w) decreased linearly in dependence on time by pasta drying. The strain which had been isolated from another commercial pasta, has began to multiply at once in the pasta which was artificially contaminated with two strains of *S. aureus*. But, that strain achieved the stationary phase with as few as $a_w = 0.93$. The collection strain which is used in laboratory for the investigation of staphylococcus resistance to antibiotics, achieved the stationary phase at the value of $a_w = 0.86$ according to a_w published in literature.