

Tab. 3 Změny v modelových vzorcích pasterovaného mléka obsahujícího spory *B. licheniformis* SPA 9

denzita před pasterací (výpočet)		po skladování 6 °C/14 dní			po skladování 12 °C/14 dní		
CPM (KTJ/ml)	spory (KTJ/ml)	CPM (KTJ/ml)	spory (KTJ/ml)	zápach (ano/ne)	CPM (KTJ/ml)	spory (KTJ/ml)	zápach (ano/ne)
1,0 x 10 ⁶	2,0 x 10 ⁶	2,3 x 10 ⁶	1,4 x 10 ⁶	ano	2,5 x 10 ⁷	4,0 x 10 ⁵	ano
1,0 x 10 ⁵	2,0 x 10 ⁵	2,7 x 10 ⁵	8,5 x 10 ⁴	ne	1,0 x 10 ⁶	8,7 x 10 ⁴	ne
1,0 x 10 ⁴	2,0 x 10 ⁴	1,7 x 10 ⁴	9,6 x 10 ³	ne	1,0 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁴	ne
1,0 x 10 ³	2,0 x 10 ³	5,1 x 10 ³	2,0 x 10 ³	ne	7,3 x 10 ³	1,1 x 10 ³	ne

CPM - celkový počet mikroorganismů (vegetativní buňky a spory)

mléka (Bartoszewicz a kol., 2008), denzita v řádu 10¹ KTJ/ml může být dosažena např. při použití syrového mléka špatné mikrobiologické kvality, kontaminací z biofilmů, apod.

Závěr

B. cereus je schopen růst i při relativně nízkých teplotách (okolo 12 °C) a tvořit proteolytické a lipolytické enzymy. Kažení pasterovaného mléka může způsobit už při denzitě spor v řádu 10¹ KTJ/ml. Důležité proto je zabránit kontaminaci syrového mléka, meziproduktů i finálních výrobků a důsledně dodržovat chladírenský řetězec s teplotami 4 - 8 °C. Naproti tomu *B. licheniformis* při 6 °C ani při 12 °C neroste a reálné riziko kažení mléčných výrobků nepředstavuje.

Přestože výsledky screeningové plotnové metody naznačují, že by testované druhy bacilů mohly být schopny tvořit biogenní aminy, chromatografické stanovení v modelových vzorcích mléka tuto hypotézu nepotvrdilo.

Z metodického hlediska je důležité zjištění, že v závislosti na druhu a kmenu bacilů se vyjasněně proteolytické a lipolytické zóny při 30 °C objevují v intervalu mezi méně než 24 h a třemi dny. Zkrácení doby inkubace ploten při stanovení proteolytických a lipolytických mikroorganismů s cílem zamezit přerůstání plazivými koloniemi bacilů proto nedoporučujeme.

Poděkování

Tato práce vznikla za finanční podpory MŠMT, při řešení výzkumného záměru MSM 2672286101 Mléko - významná součást zdravé a bezpečné výživy.

Literatura

- BARTOSZEWICZ, M., HANSEN, B.N., SWIECICKA, I. (2008): The members of the *Bacillus cereus* group are commonly present contaminants of fresh and heat-treated milk. *Food Microbiol.* 25, s. 588 - 596.
- BOVER-CID, S., HOLZAPFEL, W.H. (1999): Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 53, s. 33 - 41.
- BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., HLOBILOVÁ, M., VAŇÁTOVÁ, Z., NOVÁKOVÁ, D., DRÁB, V. (2009): Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. *Eur. Food Res. Technol.*, 229, s. 533 - 538.
- CHEN, L., COOLBEAR, T., DANIEL, R. M., (2004): Characteristics of proteinases and lipases produced by seven *Bacillus* sp. isolated from milk powder production lines. *Int. Dairy J.*, 14, s. 495 - 504.
- COSENTINO, S., MULARGIN, A.F., PISANO, B., TUVERI, P., PALMAS, F. (1997): Incidence and biochemical characteristics of *Bacillus* flora in Sardinian dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 38, s. 235 - 238.

- DE JONGHE, V., COOREVITS, A., DE BLOCK, J., VAN COILLIE, E., GRISPEERDT, K., HERMAN, L., DE VOS, A., HEYNDRICKX, M. (2010): Toxinogenic and spoilage potential of aerobic spore-formers isolated from raw milk. *Int. J. Food Microbiol.* 136, s. 318 - 325.
- FARRAR, W.E., REBOLI, A.C. (2006): The genus *Bacillus* - medical. In book Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. (Eds.): The Prokaryotes, A handbook of the biology of bacteria, Vol. 4, Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria, pp. 609 - 631. Springer Science + Business Media, LLC, New York, USA. ISBN 978-0387-25494-4.
- HAYES, M. C., BOOR, K. (2001): Raw milk and fluid milk products. In book Marth, E. H., Steel, J. L. (Eds.): Applied Dairy Microbiology, 2nd edition, pp. 59 - 76. Marcel Dekker, Inc., New York, USA. ISBN 0-8247-02536-X.
- KIM, H.U., GOEPFERT, J.M. (1971): Enumeration and identification of *Bacillus cereus* in foods. *Appl. Microbiol.* 22, s. 581 - 587.
- NĚMEČKOVÁ, I., ROUBAL, P., PECHAČOVÁ, M., VYLETĚLOVÁ, M., NEJESCHLEBOVÁ, L. (2006): Výskyt *Bacillus cereus* a *Bacillus licheniformis* ve vybraných mlékárenských technologiích. *Mlékařské listy*, 99, s. 23 - 27.
- SNEATH, P.H.A., MAIR, N.S., SHARPE, M.E., HOLT, J.G. (1986): Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2, pp. 1122. Williams & Wilkins, Baltimore, USA, ISBN 0-683-07893-3.
- SORHANG, T., STEPANIAK, L. (1997): Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. *Trends Food Sci. Tech.* 8, s. 35 - 41.
- SILLA SANTOS, M.H. (1996): Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 29, s. 213 - 231.

Přijato do tisku 1. 11. 2010

Lektorováno 15. 11. 2010

VYUŽITÍ AKTIVNÍ A PASIVNÍ METODY PŘI MONITORINGU MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE OVZDUŠÍ

Gabriela Kunová¹, Jitka Peroutková¹, Marta Pechačová², Petr Roubal²

¹ - MILCOM a.s., Praha

² - Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o., Praha

The use of active and passive methods for monitoring of microbial air-contamination

Abstrakt

V potravinářském průmyslu je monitoring mikrobiální kvality ovzduší důležitý zejména kvůli detekci sporulujících mikroorganismů a plísní, které představují zdravotní a technologické riziko. V prostředí mikrobiologické laboratoře

Výzkumného ústavu mlékárenského a v prostředí dvou mlékáren byl uskutečněn mikrobiologický monitoring ovzduší za použití pasivní metody (spady) a aktivní metody (aeroskop). Sledovány byly celkové počty mikroorganismů (CPM), kvasinky a plísně. Nejvyšší CPM byly zachyceny hlavně v říjnu, přičemž nejvyšší záchyt plísní byl sledován v období srpna, což by mohlo souviset se zvýšeným výskytem výtrusů plísní v tomto období i v přírodě. V případě CPM nelze vyvodit tak jednoznačnou souvislost s ročním obdobím jako v případě výskytu plísní, i když podzimní měsíce se zdají být kritičtější. Co se týká monitoringu ovzduší v mlékárnách; vyšší záchyt plísní a celkového počtu mikroorganismů byl sledován v sýrařském provozu, v jogurtárně, nebo v porcovně sýrů. V méně rizikovém prostředí může být kontrola spadů přiměřeným prostředkem na monitorování ovzduší, avšak v rizikových oblastech pro posouzení mikrobiální kvality ovzduší je nezbytné použití účinných nasávacích zařízení (např. aeroskop).

Klíčová slova: mikrobiální hygiena ovzduší, spady, aeroskop, plísně

Abstract

Microbiological monitoring of air contamination in microbiological laboratory of the Dairy research institute and in two dairies environment using a passive method (settle plates) and active method (air sampler) was carried out. Total numbers of bacteria, yeasts and molds were observed. The highest total counts of bacteria were detected mainly in October, the highest detection of molds were observed during August, which could be associated with an increased incidence of mold spores in this period in nature. In the case of total bacterial counts the relationship with the season is not so obvious, even though autumn months seem to be more critical. Regarding the monitoring of air quality in dairies; higher counts of microorganisms was detected in yoghurt-processing and cheese cutting environment. In a less risky environment the passive method may be appropriate for air monitoring, but in high risk areas is necessary to use active method (eg Air Sampler) to assess the microbial quality of air.

Key words: Microbial hygiene of air, settle plates, air sampler, molds

Úvod

Kontrolovat a stanovit mikrobiální kontaminaci pracovního prostředí je možné za pomoci stěrů z pracovních ploch, nástrojů a předmětů a součástí by měl být také mikrobiální monitoring ovzduší. V zařízeních, kde se vyrábějí léčiva a zdravotnické prostředky je monitorování ovzduší zásadní a je již dobře zavedené. Monitoring mikrobiální kvality ovzduší je však důležitý i v dalších odvětvích, zejména v potravinářství, ale také v kancelářských budovách či jiném pracovním prostředí.

Od doby, kdy byla zjištěna souvislost mezi alergickým onemocněním a kvalitou ovzduší, byl zvýšený zájem

věnován zejména koncentracím plísní v ovzduší. (Klánová, 2002). S neustálým zvyšováním zájmu o biologický monitoring ovzduší se začal rozvíjet i vývoj přístrojů na jejich detekci. K dnešnímu dni jsou podobných přístrojů stovky a výsledky s nimi získané lze velmi obtížně porovnávat. S tím souvisí i různá hodnota standardů, které jsou v jednotlivých zemích používány. Hodnoty standardů jsou velmi odlišné, kromě použitých přístrojů pro vyšetřování a metod měření jsou závislé i na klimatických podmínkách v jednotlivých zemích (Klánová, 2002). V České republice jsou hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností některých staveb stanovené Vyhláškou č. 6/2003 Sb. Dále platí ČSN EN ISO norma 14698-1, 2 : 2003, Čisté prostory a příslušné řízené prostředí - Regulace biologického znečištění - část 1. specifikuje hlavní principy a metody monitoringu a 2. část specifikuje vyhodnocení údajů o biologickém znečištění. Existuje velké množství dostupných metod pro stanovení životaschopných částic v ovzduší. Výběr konkrétní metody a zařízení bude záviset na účelu, pro který se vzorek odebírá. Podle uvedené ISO normy rozlišujeme dva hlavní způsoby odběru, a to aktivní a pasivní způsob. **Pasivní metodou** jsou spady na standardní Petriho misky obsahující vhodné kultivační médium (dle skupiny sledovaných mikroorganismů). **Aktivní metody** využívají vzorkovače, příkladem je tzv. nárazový vzorkovač, nebo aeroskop, který je založen na principu Andersenova aeroskopu. Známý objem vzduchu je nasáván do odběrové hlavice pomocí čerpadla, to vytváří laminární proudění vzduchu, které je následně usměrňováno na standardní Petriho misku (90 mm), obsahující agar. Po provedení vzorkovacího cyklu je Petriho miska inkubována (za podmínek dle sledované skupiny mikroorganismů). Jednou ze standardních metod na hodnocení hygieny ovzduší je tzv. IMA-index (index mikrobiálního znečištění vzduchu), který definuje 5 tříd hygieny ovzduší. Metoda (IMA index) je založena na stanovení celkového počtu MO, kvasinek a plísní na tuhé agarové půdě spadovou metodou. Na základě získaného IMA indexu se určí stupeň hygieny ovzduší, případně rizikovitost prostředí (Pitzura, 2001, Lopašovská, 2006).

Odhad hygieny ovzduší (Pitzura, 2001)

IMA třída	IMA index	rizikovitost prostředí	hygiena ovzduší
1	0 - 5	velmi vysoká	velmi dobrá
2	6 - 25	vysoká	dobrá
3	26 - 50	středná	středná
4	51 - 75	---	špatná
5	>75	---	velmi špatná

Cílem práce bylo zmonitorovat mikrobiální kvalitu ovzduší v laboratorních prostorách a v některých provozech z prostředí dvou mlékáren za pomoci aktivní a pasivní metody.

Materiál a metody

Monitoring hygieny ovzduší byl vykonán jak v mikrobiologické laboratoři Výzkumného ústavu mlékárenského

Tab. 1 Monitoring čistoty ovzduší - laboratorní prostory

datum	celkový počet MO		kvasinky		plísně		poznámky
	SPADY KTJ /100 cm ² /30 min.	AEROSKOP KTJ/m ²	SPADY KTJ /100 cm ² /30 min.	AEROSKOP KTJ/m ²	SPADY KTJ /100 cm ² /30 min.	AEROSKOP KTJ/m ³	
září	16	1520	-	-	-	-	sanitace
říjen	16	2060	-	-	-	-	sanitace
	12	2540	-	-	-	-	sanitace
	12	550	-	-	-	-	
	8	560	-	-	-	-	
listopad	*	540	-	-	-	-	
	12	540	*	0/50 l	*	240	
	*	320	-	-	-	-	
	8	540	-	-	-	-	
prosinec	4	240	-	-	-	-	
	12	320	*	0/50 l	*	36	
leden	*	220	*	0/50 l	4	40	
	*	260	*	0,50 l	*	20	
	12	160	*	0/50 l	*	40	
	4	520	*	0/50 l	*	40	
únor	*	540	*	20	*	120	
	4	360	*	0/50 l	4	40	
březen	*	480	*	60	*	120	
	8	620	*	20	4	60	
duben	4	460	*	40	4	40	
	*	340	-	-	-	-	
	12	540	*	40	*	60	
	16	280	*	20	*	80	
květen	16	1180	8	100	16	200	
	12	480	-	-	-	-	
	4	1260	*	20	*	120	
	4	590	*	80	*	200	
červen	12	620	*	60	4	80	
	*	280	*	40	*	100	
	12	340	4	420	*	220	
	8	200	52	2460	*	180	sanitace
červenec	*	300	*	60	*	180	
	4	140	32	720	8	140	sanitace
	8	140	24	320	8	260	
srpen	4	60	*	80	8	780	
	28	940	156	3380	56	1160	sanitace
	12	360	20	540	48	2220	sanitace
	20	880	*	20	52	1960	sanitace
	8	360	*	0/50 l	16	580	
Září	8	420	*	120	16	480	
	8	260	*	20	16	20	
	16	460	*	0/50 l	*	180	
	8	700	4	520	8	380	
říjen	4	220	*	40	*	460	
kultivační podmínky	GTK agar 30 °C/72 hodin		GKCH agar 25 °C/3-5 dnů				

* nárůst na plotně je za daný čas tj. 15 minut negativní, - netestováno

(aktivní i pasivní metodou), tak v prostředí dvou mlékáren v různých provozech (aktivní metodou). Monitoring ovzduší v mlékárnách byl vykonán do dvou hodin od ukončení pravidelné sanitace a to v období listopad 2009, květen a červen 2010. Nasáván byl objem 20 nebo 25 litrů v mlékárnách, 50 litrů v laboratorním boxu. Monitoring čistoty vzduchu v laboratorních prostorách byl prováděn

pravidelně, každý týden, po dobu více než jednoho roku vždy po ošetření prostoru ultrafialovým zářením po dobu cca 12 hodin a to prostřednictvím 2 metod; pasivní metodou - tj. klasickými spady na plotnu, kdy doba expozice byla 15 minut a získaný odečet byl přepočten na 100 cm²/ 30 minut a s použitím aeroskopu MAS 100 Eco (Merck, Německo), jež představuje metodu aktivní. Použití

aeroskopu je v souladu s normou ISO 14698, část 1 a 2. Průtok vzduchu je regulován na 100 litrů za minutu, přičemž objemy nasávaného vzduchu jsou nastavitelné od 1 do 1000 litrů (Merck). Doba impakce nasávaného vzduchu, resp. odebraný objem vzduchu by měly odpovídat stupni čistoty prostředí, ve kterém je odběr prováděn. Mezi jednotlivými odběry byla odběrová hlava přístroje sterilizována autoklávováním (15 minut při 121 °C), přičemž mezi odběry vzduchu v odlišných interiérech byla odběrová horní část přístroje očištěna ubrouskem napuštěným dezinfekčním přípravkem. Postupovalo se vždy z místa s nižší předpokládanou koncentrací mikroorganismů na místo s vyšší předpokládanou koncentrací. Sledovány byly celkové počty mikroorganismů dle ČSN EN ISO 4833 a počet kvasinek a plísní dle ČSN ISO 6611.

Interpretace výsledků při použití aeroskopu: Při vzrůstajícím počtu mikroorganismů ve vzorkovaném objemu se zvyšuje pravděpodobnost průniku několika mikroorganismů stejným otvorem v perforovaném víku. Tato skutečnost se koriguje použitím Fellerovy konverzní tabulky za pomoci které se hodnota (počet KTJ) odečtená na misce po kultivaci přepočítá na pravděpodobný statistický počet.

Interpretace výsledků při stanovení IMA indexu: Výsledky stanovení se udávají jako KTJ, index znečištění se určí jako: $KTJ \cdot dm^{-2} \cdot h$ (dm^2 je plocha Petriho misky v dm^2 a h je čas expozice v hodinách).

Výsledky a diskuze

Výsledky monitoringu ovzduší v mikrobiologické laboratoři a mlékárnách jsou zpracovány v tabulkách 1 a 2. Sledovány byly celkové počty mikroorganismů a počet kvasinek a plísní (ČSN EN ISO 4833, ČSN ISO 6611). Tyto dvě metody zachycují nejběžnější mikrobiální kontaminanty vzduchu, kterými jsou sporující mikroorganismy, mikrokoky, kvasinky a plísně. Je obecně známo, že nejvíc zastoupenými bakteriemi v ovzduší ve vnitřních prostorách jsou bakterie z rodů *Staphylococcus*, *Micrococcus* (Bonetta a kol., 2010, Maroni a kol., 1993)

Tab. 2 Monitoring hygieny ovzduší - prostředí mlékáren

Termín odběru	Místo odběru	CPM (KTJ/m ³)	Kvasinky + plísně (KTJ/m ³)	
21.6.2010	porcovna sýrů	250	Plísně: 400	Kvasinky: neg./20 l
	solné lázně	450	Plísně: 1450	Kvasinky: neg./20 l
	máslárna	550	Plísně: 1200	Kvasinky: neg./20 l
	sýrárna	650	Plísně: 900	Kvasinky: neg./20 l
12.5.2010	jogurtárna	880	Plísně: 5080	Kvasinky: 120
	sýrárna	1040	Plísně: 1640	Kvasinky: 280
	porcovna sýrů, balíčka	520	Plísně: 2400	Kvasinky: 40
9.11.2009	násypka (výroba tvarohových dezertů)	1300	Plísně: 350	Kvasinky: neg./20 l
	plnicí ventily (výroba tvarohových dezertů)	neg./20 l	Plísně: 50	Kvasinky: neg./20 l
	místnost pro navažování	450	Plísně: 150	Kvasinky: neg./20 l

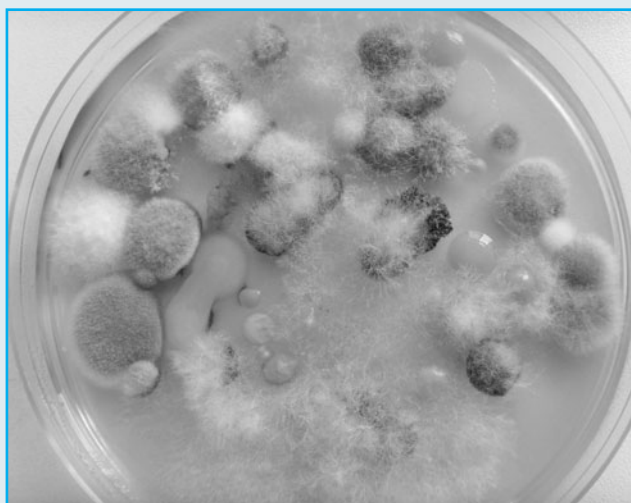
a z rodu *Bacillus* (Utescher a kol., 2007). Co se týče zastoupení plísní, nejčastěji jsou v ovzduší přítomny vláknité houby z rodů *Penicillium*, *Aspergillus* a *Cladosporium* (Nevalainen a Seuri, 2005, Utescher a kol., 2007).

Podle **Vyhlášky č. 6/2003 Sb.** - kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností některých staveb - jsou požadavky na kvalitu vnitřního prostředí staveb s výjimkou prostorů vyžadujících zvýšené nároky na jeho čistotu splněné, nepřekročí-li koncentrace bakterií 500 kolonie tvořících jednotek (KTJ) na 1 m³ vzduchu a koncentrace plísní nepřekročí počet 500 KTJ. m⁻³ vzduchu a to při stanovení koncentrace mikroorganismů aktivním nasáváním vzduchu aeroskopem standardním operačním postupem podle přílohy č. 3 této vyhlášky. Nepřípustný je viditelný nárůst plísní na zdech a povrchu pobytových místností.

Námi stanovené počty mikroorganismů v laboratorním boxu jsou uváděny v tabulce 1. Nejvyšší celkové počty bakterií byly zachyceny hlavně v říjnu, přičemž nejvyšší počty plísní byly zachyceny v období srpna, což by mohlo souviset se zvýšeným výskytem výtrusů plísní v tomto období i v přírodě. Počty plísní (kromě měsíce srpen), vyhověly požadavkům Vyhlášky č. 6/2003 Sb. (tj. méně než 500 KTJ/m³), i když je nutné zdůraznit, že tato Vyhláška stanovuje hygienické limity pobytových místností a nevztahuje se přímo na laboratoře. Co se týče celkového počtu bakterií, v průběhu celého roku se vyskytly i vyšší záchyty (maximální zachycený počet aeroskopem byl 2540 KTJ/m³), ale také záchyty, kdy počty byly nižší (60 KTJ/m³). Tady nelze vyvodit tak jednoznačnou souvislost s ročním obdobím jako v případě výskytu plísní, i když podzimní měsíce se zdají být kritičtější. Vyšší kontaminaci ovzduší na podzim a v létě sledovaly také Lopašovská a kol. (2006) v pekárnách a masokombinátech.

Po stanovení vysoké denzity sledovaných skupin mikroorganismů byla provedena sanitace desinfekčními přípravky na bázi chlóru mimo běžný sanitační režim. Při zvýšeném výskytu mikroorganismů netvořících spóry je návaznost sanitace a vzdušné kontaminace, jak je to vidět i v tabulce 1, patrná okamžitě. Pokud je zjištěna vysoká denzita plísní nebo sporulujících mikroorganismů, je nutné pro zlepšení kvality vzduchu v daném objektu sanitaci opakovat, tj. nestačí jednorázová sanitace na úplnou eliminaci odolných spor a výtrusů plísní. Bylo zjištěno, že sledování koncentrací mikroorganismů v ovzduší má určité zákonitosti. Více je mikroorganismů v ovzduší přes den (v noci jsou koncentrace nejnižší), což bylo interpretováno jako závislost na lidské činnosti. Bonetta a kol. (2010) sledovali ovzduší ve vnitřních prostorách kanceláří; vyšší celkové počty byly zachyceny ráno ve srovnání s odpoledním měřením. Bylo prokázáno i to, že koncentrace mikroorganismů v ovzduší závisí na ročním období (Klánová, 2002). Za období s nejvyšším rizikem vzdušné kontaminace lze považovat podzimní měsíce.

Z našeho sledování lze říci, že spadovou metodou (expoziční čas 15 minut) nebyl zjištěn záchyt, když jsme aeroskopem stanovili:



Obr. 1 a 2 *Nárůst plísní a kvasinek na GKCH agaru po 5-denní kultivaci (ovzduší z prostředí sýrářny a jogurtárny). Stanovení aeroskopem v objemu 25 litrů vzduchu.*

- do 540 KTJ/m³ CPM
- do 120 KTJ/m³ kvasinek
- do 460 KTJ/m³ plísní

I na základě těchto výsledků je možné konstatovat, že sledování kontaminace ovzduší je přesnější při použití metod, které využívají aktivní nasávání přesně definovaného objemu vzduchu. Na druhé straně, někteří autoři (Pitzura, 2001) považují pasivní metodu monitoringu pomocí spadových misek za lepší obraz toho, co se děje na kritických površích než ty, u kterých je vzduch aspirován (aktivní metody) - kde sledujeme mikrobiální obsah v ovzduší. Výběr konkrétní metody a zařízení bude tedy záviset na účelu, pro který se vzorek odebírá. Při pasivním vzorkování, za pomoci spadů na Petriho misky je možné sledovat počet usazených mikroorganismů za definovaný čas, pak v závislosti na času expozice a sledované plochy, lze předpokládat míru případné kontaminace produktu. Metoda s využitím spadů je spíše orientační, výsledek není významně ovlivněn intenzitou provozu ve sledované lokalitě (zvýšený pohyb osob). Při hodnocení s použitím aeroskopu jsou tyto faktory zohledněny, je zde přesně definovaný objem kontrolovaného vzduchu a je tedy mnohem



Obr. 3 *Přístroj aeroskop MAS - 100 Eco (Merck, Německo) pro stanovení mikrobiologické kvality ovzduší.*

víc vypovídající. Každá z metod je založena na jiném principu, sledovaná veličina není stejná, proto se metody nedají příliš srovnávat. V méně rizikovém prostředí může být pasivní metoda přiměřeným prostředkem na monitorování biologické kvality ovzduší. V rizikových oblastech pro posouzení mikrobiální kvality ovzduší je však nezbytné použití účinných nasávacích zařízení (ISO 14698-1, tzv. aktivní metoda). ISO norma 14698-1 uvádí dva hlavní typy přístrojů, které jsou považovány za vhodné pro odběr vzorků v rizikových oblastech s předpokládaným nízkým stupněm kontaminace, a to nárazové a filtrační vzorkovače. Ve zmínované ISO normě jsou uvedeny také požadavky na tyto přístroje.

Co se týká monitoringu ovzduší v mlékárnách; vyšší záchyt plísní a celkového počtu mikroorganismů byl sledován v sýrářském provozu, v jogurtárně, nebo v místnosti na porcování sýrů (viz tabulka 2). Návaznost na roční období nelze jednoznačně potvrdit, vzhledem k tomu, že měření bylo prováděno pouze v měsících květen, červen a listopad. Z hygienického hlediska byl nejhorší záchyt plísní v provozu na výrobu jogurtů (5080 KTJ/m³), ale také v porcovně sýrů (2400 KTJ/m³). Nežádoucí jsou také vyšší záchyty plísní u solních lázní či na másličárně.

Na základě výpočtu IMA indexu bylo prostředí laboratorního boxu zařazeno do 1. kategorie s hygienou ovzduší velmi dobrou a to přes celé sledované období (od září 2009 do října 2010). V prostředí mlékáren byla hygiena ovzduší sledována jen za pomoci aeroskopu, tudíž IMA index počítat nelze.

Aby byl monitoring účinný a výsledky reprodukovatelné, vzorkování se musí uskutečňovat pravidelně, jednou nebo dvakrát měsíčně, na stejném místě a za stejných podmínek (Pitzura, 2001).

Závěr

Mikroorganismy, přítomné ve vzduchu, jsou potenciálním rizikem pro kontaminaci surovin, polotovarů nebo finálních produktů a procesů. Kontrola kontaminace

vzduchu je tudíž velmi důležitá. Každá výrobní činnost vyžaduje přiměřenou úroveň čistoty prostředí, aby bylo minimalizováno riziko mikrobiální nebo částicové kontaminace výrobků. Čisté prostory a zařízení by měly být pravidelně monitorovány a výběr monitorovacích míst by měl být založen na analýze rizik. Na kontrolu hygieny ovzduší se používají dvě základní metody; pasivní metoda (za použití spadů) může být v méně rizikovém prostředí přiměřeným prostředkem na monitorování biologické kvality ovzduší. Neodebírání se konkrétnímu objemu, takže výsledky nejsou kvantitativní. Aktivní metoda využívá vzorkovače (aeroskop), za pomoci kterých se nasává známý objem vzduchu. Sledovat je možné i velké objemy vzduchu, což je nezbytné pro sledování kvality ovzduší v čistých prostorech, kde je počet mikroorganismů pravděpodobně velmi nízký.

Poděkování:

Tato práce byla podporována grantem 2B08074 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR a výzkumným záměrem MSM č. 267228610. Poděkování patří i mlékárnám za spolupráci při odběru vzorků.

Literatura:

- BONETTA, SA., BONETTA, SI., MOSSO, S., SAMPÓ, S., CARRARO, E. (2010): Assessment of microbiological indoor air quality in an Italian office building equipped with an HVAC system. *Environ. Monit. Assess.* 161, 473-483.
- ČSN EN ISO 14698-1 (2004): Čisté prostory a příslušné řízené prostředí - Regulace biologického znečištění - část 1 - Hlavní principy a metody monitoringu.
- ČSN EN ISO 14698-2 (2004): Čisté prostory a příslušné řízené prostředí - Regulace biologického znečištění - část 2 - Vyhodnocení údajů o biologickém znečištění.
- ČSN EN ISO 4833 (2003): Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C.
- ČSN ISO 6611 (2009): Mléko a mléčné výrobky - Stanovení počtu jednotek vytvářejících kolonie kvasinek a/nebo plísní - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 25°C.
- KLÁNOVÁ, K. (2002): Standardní operační postupy pro vyšetřování mikroorganismů v ovzduší a pro hodnocení mikrobiologického znečištění ovzduší ve vnitřním prostředí. *Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica*, 1, s. 1-21.
- LOPAŠOVSKÁ, J., PETRIKOVÁ, J., KOREŇOVÁ, J., STOLAŘOVÁ, K. (2006): Monitoring úrovně hygieny a sanitácie v malých potravinářských prevádzkach. Zb. Bezpečnosť a kontrola potravín, SPU Nitra, apríl 2006, s. 65-69.
- MARONI, M., BERSANI, M., CAVALLO, D., ANVERSA, A., ALCINI, D. (1993): Microbial contamination in buildings: Comparison between seasons and ventilation systems. In O. Seppanen (Ed.), *Proceedings of indoor air '93, Helsinki, international conference on indoor air, quality and climate* (Vol. 4, s. 137-142).
- NEVALAINEN, A., SEURI, M. (2005): Of microbes and men. *Indoor Air*, 15, s. 58-64.
- PITZURA, O. (2001): Microbial air monitoring in food industry. *Laboratory Journal*, 2, s. 62-64.
- UTESCHER, C., FRANZOLIN, M.R., TRABULSI, L.R. (2007): Microbiological monitoring of clean rooms in development of vaccines. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, s. 710-716.
- VYHLÁŠKA Č. 6/2003 Sb., kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností některých staveb. www.merck-chemicals.cz

Přijato do tisku 8. 11. 2010
Lektorováno 16. 11. 2010

APLIKACE PROBIOTICKÝCH KULTUR LAKTOBACILŮ V MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH TYPU KEFÍRU

Lacmanová Iva¹, Dráb Vladimír², Volná Lucie²

¹ MILCOM a.s., Praha

² Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

The application of probiotic lactobacilli cultures in milk products of kefir type

Abstrakt

Předmětem provedeného experimentu bylo zjištění schopnosti několika probiotických kmenů laktobacilů lidského původu přežít v kysaném mléčném výrobku typu kefiru během 28 dnů skladování 4-6 °C a zhodnocení jejich přídavku na senzorycké vlastnosti výrobku. K výrobku byly rovněž přidávány bakterie propionového kvašení za účelem zvýšení obsahu vitamínu B12 (Warminská-Radiko a kol., 2002). Všechny testované kmeny laktobacilů byly schopné přežít ve výrobku v dostatečně vysokých počtech (min. 10⁶ JTK/ml) během 28 dní skladování při 4-6 °C bez negativního ovlivnění jeho senzoryckých vlastností.

Abstract

The topic of the experiment was the evaluation of the ability of several different probiotic lactobacilli strains of human origin to survive for 28 days of storage (at 4-6 °C) in the fermented milk product of kefir type. The effect of added lactobacilli strains on the sensory characteristics of the product was evaluated as well. The propionic acid bacteria were added to increase the level of vitamin B12 in the product (Warminská-Radiko et al., 2002). All tested lactobacilli strains were able to survive at product in enough high numbers (min. 10⁶ CFU/mL) without negative affect on the sensory properties till the end of the warranty period (28 days at 4-6 °C).

Úvod

V této práci byla sledována aplikace probiotických kultur laktobacilů v mléčných výrobcích typu kefir.

Kefír je nápoj vznikající procesem mléčně-alkoholického kvašení pomocí bakterií a kvasinek obsažených v kefirových zrnech. Má jedinečnou chuť a jedinečné vlastnosti. Během fermentace jsou tvořeny peptidy a exopolysacharidy, u kterých byly prokázány bioaktivní vlastnosti. Bylo také prokázáno, že kefir mají antikarcinogenní, antimutagenní, antivirové a antimykotické vlastnosti (Farnworth, 2005).

Probiotika se definují jako živé MO, které mají příznivý účinek na mikroflóru člověka či zvířete. Uplatňují se nejen v trávicím traktu, ale i horních částech dýchacích cest či