

běžně ničí bakterie. Výsledky Tabulky 1 ukazují, že stafylokokový enterotoxin typu A nebyl inaktivován žádnou z pasteračních teplot u 8 vzorků z 10 (80 %), v případě SEB byly rezistentní 2 vzorky z 9 (22,2 %), u SEC bylo rezistentních 5 vzorků z 10 (50 %). Nejčastěji byla termorezistence zaznamenána u SEA, nejméně často u SEB. Z celkového počtu 29 vzorků jich bylo termorezistentních 15 (51,7 %). Termorezistenci při pasteraci 72 °C/15 s prokázalo 93,1 % vzorků SEs, při pasteraci 85 °C/15 s 62,1 % SEs a při pasteraci 92°C/15 s bylo rezistentních 51,7 % SEs.

Závěr

Provedená studie ukázala, že i v případě, kdy při mikrobiologickém vyšetření pasterovaného mléka nejsou bakterie *S. aureus* detekovány, případně je stanoven jejich nízký počet, může být potravina příčinou stafylokokové enterotoxikózy z důvodu přítomnosti termostabilních SEs. Dále bylo prokázáno, že pasterační teploty mohou stafylokokové enterotoxiny inaktivovat. Termorezistence stafylokokových enterotoxinů vůči pasteračním teplotám, uváděná odbornou i vědeckou literaturou jako jejich významná vlastnost, tak byla prokázána jen u části vzorků (51,7 %). Nejčastěji byla odolnost k tepelnému záhřevu zaznamenána u SEA, nejméně často u SEB. Odolnost SEs klesala se vzrůstající pasterační teplotou. Přestože pasterace mléka má zásadní vliv na zajištění bezpečnosti této potraviny, hlavním preventivním krokem pro zabránění výskytu stafylokokové enterotoxikózy u konzumentů pasterovaného mléka zůstává nepřerušení chladicího řetězce, jak požaduje platná evropská legislativa (nařízení (ES) č. 853/2004).

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory IGA VFU Brno č. 212/2015/FVHE a NAZV KUS QJ 1230044

Seznam literatury

- ARGUDÍN, M. A., MENDOZA, M. C., RODICIO, M. R. (2010): Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2, s. 1751-1773.
- BHUNIA, A. K. *Foodborne microbial pathogens. Mechanisms and pathogenesis*. 1st Ed. New York, USA: Springer Science+Business Media, LLC. 2008. 276 s. ISBN 978-0-387-74536-7
- ČSN EN ISO 6888-1 - *Mikrobiologie potravin a krmiv* - Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) - Část 1: Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera, 1999.
- JANŠTOVÁ, B. jr., NECIDOVÁ, L., JANŠTOVÁ, B., VORLOVÁ, L. (2012): *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in different types of milk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 60, s. 103-108.
- JANŠTOVÁ, B. jr., NECIDOVÁ, L., SKOČKOVÁ, A., JANŠTOVÁ, B. (2014): Staphylococcal enterotoxin production in model samples of milk and fresh cheese. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53, s. 389-392.
- LARKIN E. A., CARMAN, R. J., KRAKAUER, T., STILES, B. G. (2009): *Staphylococcus aureus* the toxic presence of a pathogen extraordinaire. *Current Medicinal Chemistry*, 16, s. 4003-4019.
- LOIR, Y., BARON, F., GAUTIER, M. (2003): *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 2, s. 63-76.

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. Úřední věstník 2004; L 139: 55-205.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Úřední věstník L 338, 22/12/2005, S. 0001 - 0026.

NECIDOVÁ, L., JANŠTOVÁ, B., KARPÍŠKOVÁ, R. (2012): Dynamics of staphylococcal enterotoxin production in model experiments simulating the fresh cheese environment. *Acta Veterinaria*, 81, s. 391-396.

RABELLO, R. F., MOREIRA, B. M., LOPES, R. M., TEIXEIRA, L., M., RILEY, L., W., CASTRO, A., C. (2007): Multilocus semence typik of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from cows with mastitis in Brazilian dairy herds. *Journal of Medical Microbiology*, 56, s. 1505-1511.

Přijato do tisku: 8. 9. 2015

Lektorováno: 17. 9. 2015

METODY TESTOVÁNÍ ÚČINNOSTI SANITAČNÍCH ROZTOKŮ PROTI PLÍSNÍM

Irena Němečková, Denisa Mihalová, Marie Kejmarová, Petr Roubal

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Control methods for sanitary solutions efficiency against moulds

Souhrn

Plísně patří mezi významné původce vzniku vad různých typů mléčných výrobků, a tak může zvýšený výskyt plísní v provozu mlékárny vést ke značným ekonomickým ztrátám. Proto je důležité proti nežádoucímu výskytu plísní bojovat, mj. i používáním vhodných sanitačních roztoků s antifungálním účinkem. Z toho důvodu byla na souboru 7 kmenů plísní izolovaných z mléčných výrobků a 12 sanitačních roztoků navržena a ověřena metoda pro testování účinnosti sanitačních roztoků. Metoda spočívá v kombinaci měření inhibičních zón agarovou difuzní metodou a testování smáčivosti plísní sanitačními roztoky za podmínek simulujících podmínky sanitace. Tímto způsobem lze otestovat jak vliv sanitačních roztoků na jednotlivé buňky, tak na kolonie plísní jako celek. Získané výsledky naznačují, že je navržena metoda vhodná pro potřeby mlékárenské praxe.

Klíčová slova: eliminace plísní, mléčné výrobky, sanitační roztoky, účinnost sanitace

Summary

Moulds belong to important spoilage microorganisms of various dairy products. Thus, the elevated occurrence of moulds in a plant can lead to considerable economic losses. Therefore, it is important to fight against undesirable

Tab. I Přehled použitých sanitčních roztoků

Číslo roztoku	Složení výchozích koncentrátů	Dávkování koncentrátů	Podmínky působení
1	H ₂ O ₂ 10-20 %, HNO ₃ 5-10 %, kys. octová 5-10 %, kys. peroctová 2,5-5 %	0,1 %	20 °C/10 min
2	H ₂ O ₂ 10-20 %, HNO ₃ 5-10 %, kys. octová 5-10 %, kys. peroctová 2,5-5 %	3 %	20 °C/10 min
3	3a - H ₂ O ₂ 8-35 % 3b - sůl kys. nitritotrioxové 5-10 %, alkylaminoxidy 2-5 %, křemičitan sodný 2-5 %, 2-(2-butoxy)ethanol 1-2 %, NaOH 0,5-1 %	1 % 3a do 3,5 % 3b	20 °C/20 min
4	H ₃ PO ₄	1 %	60 °C/10 min
5	HNO ₃ 30-60 %, kys. orthofosforečná 5-15 %	1 %	65 °C/10 min
6	HNO ₃ 47-53 %, pH 1	1 %	75 °C/10 min
7	kys. amidosírová 20-25 %, org. kys., neionogenní tenzidy, rozpouštědla, odpěňovač	1 %	60 °C/20 min
8	NaOH 25-50 %, KOH 2,5-5 %	2 %	60 °C/20 min
9	9a - chlornan sodný 5,2-10 %, KOH 0,5-1 %, 9b - NaOH 25-35 %, alkylpolyglykosidy 5-10 %, KOH 3-5 %	1 % 9a do 3,5 % 9b	20 °C/20 min
10	KOH 5-15 %, křemičitan draselný 1-5 %, draslík tripolyfosfát 1-5 %, chlornan sodný 15-30 %	1 %	60 °C/20 min
11	11a - N-(3-aminopropyl)-N-dodecylpropan-1,3-diamin 10-20 %, kys. octová 2,5-5 % 11b - NaOH 25-35 %, alkylpolyglykosidy 5-10 %, KOH 3-5 %	1 % 11a do 3,5 % 11b	20 °C/20 min
12	polyhexamethylen guanidin hydrochlorid do 1,5 %, alkyl(C12-C16) benzyl-(dimethyl)amonium chloridy do 0,25 %	4 %	20 °C/15 min

moulds e.g. by suitable sanitary solutions with an antifungal activity. Hence, a method for the efficiency testing of sanitary solutions was designed and proved using a file of 7 moulds isolated from dairy products and 12 sanitary solutions. The method consists of inhibitory zones measurement by an agar well diffusion method and the testing of moulds wettability by sanitary solutions under the conditions simulating sanitation. This method is useful for the testing of sanitary solution influence on both individual cells and on entire colonies. The obtained results suggest that the proposed method is suitable for needs of dairy practice.

Key words: elimination of moulds, dairy products, cleaning and disinfection solutions, efficiency of sanitation

Úvod

Plísňe jsou přítomny ve vzduchu, vodě i půdě a jsou často nalézány i na výrobním zařízení a na/v mléčných výrobcích. Plísňe mohou způsobovat kažení různých druhů sýrů, tekutých fermentovaných mléčných výrobků, másla, zahuštěného slazeného mléka a příležitostně i dalších typů mléčných výrobků. Typickými vadami způsobenými plísněmi jsou viditelný nárůst, barevné změny, narušení textury či vady chuti nebo vůně. Protože některé druhy plísní rostou i při 1 - 5 °C, tolerují nízkou aktivitu vody (až 0,80) a snášejí nízký parciální tlak kyslíku, mohou se uplatnit i během skladování mléčných výrobků. V mléčných výrobcích se nejčastěji vyskytují plísňe rodu *Penicillium*, dále pak *Aspergillus*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Cephalosporium*, *Geotrichum*, *Rhizobium*, *Alternaria* a další (Sørhung, 2011).

Vzhledem k výše uvedenému je důležité věnovat pozornost eliminaci plísní z mlékárenských provozů. Pokud jde o technologické zařízení jako takové, Williams (2006) doporučuje důkladné vyčištění následované vyhřátím nad 70 °C pomocí horké vody nebo páry.

Důvodem je nedostatečná úroveň poznání mechanismů inaktivace/rezistence plísní, ze které by bylo možné čerpat obecná doporučení pro použití sanitčních roztoků s fungicidním účinkem. Významná antifungální aktivita byla zatím zaznamenána u halogenovaných fenolů, parabenů a glutaraldehydu, nicméně tyto látky jako sanitční prostředky nenašly uplatnění kvůli jejich toxikologickým vlastnostem a/nebo interakcím s technologickými zařízeními. Situace je navíc komplikována rozdíly v antifungálním účinku sanitčních roztoků na vegetativní buňky a na spory plísní, a dále rezistencí některých plísní (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*) vůči krátkodobému působení teplot blízkých bodu varu, což se týká zejména starších spor (Williams, 2006). Otázka zdánlivé rezistence spor plísní vůči záhřevu je zodpovězena v kapitole Výsledky a diskuze.

Z hlediska postupů hodnocení antifungálního účinku, existují metodiky, např. CLSI M38-A2 (2008) nebo ČSN EN 1650 + A1 (2013), které však nemají přímou souvislost s potřebami mlékárenské praxe. CLSI M38-A2 (2008) je určena především pro potřeby klinické praxe a zabývá se stanovením minimálních inhibičních koncentrací (MIC) a minimálních efektivních koncentrací (MEC) antibiotik a dalších látek vůči testovaným patogenním plísním pomocí diluční metody za definovaných podmínek, které neodpovídají provozním podmínkám mlékáren. Kromě toho jsou koncentrace sanitčních roztoků pro provozní aplikace - vzhledem k možnému korozivnímu účinku, ekonomické stránce provozu, a dalším faktorům - v určitém rozmezí koncentrací pevně dané, a tedy nemá smysl hledat koncentrace vyšší.

ČSN EN 1650 + A1 (2013) se týká testování dezinfekčních prostředků jako takových a je to vhodná referenční metoda pro vytváření aplikačních listů, porovnávání účinnosti jednotlivých preparátů u jejich výrobců, apod. výstupy využitelné v obchodním styku. Metoda využívá standardizované suspenze konkrétních sbírkových kmenů *Candida albicans* a *Aspergillus niger* (pouze jeho spory), které jsou za definovaných podmínek inkubovány s testo-

vaným dezinfekčním prostředkem naředěným ve standardním způsobem připravené tvrdé vodě. Po inkubaci následuje neutralizace aktivní látky nebo separace indikátorových mikroorganismů od aktivní látky pomocí membránové filtrace a klasické stanovení přeživších kvasinek nebo spor plísní na Petriho miskách. S využitím této metody a referenčních sbírkových kmenů se mohou sanitační roztoky jevit jako účinnější než při reálné aplikaci, protože sbírkové kmeny bývají většinou citlivější vůči nepříznivým faktorům než divoké kmeny z prostředí (Němečková a kol. 2014).

Metodu podle ČSN EN 1650 + A1 (2013) by sice bylo možné adaptovat na provozní podmínky (teplota a čas inkubace se sanitačním roztokem, ředění sanitačního roztoku ve vodě, která je k dispozici na provoze, testování účinnosti vůči kmenům plísní izolovaným v provozu, atd.), ale nelze takto získat poznatky o tom, jak sanitační roztoky působí na vegetativní buňky plísní, ani jak na sanitační roztok reagují přeživší buňky.

Cílem této práce bylo navrhnout metodu pro testování účinnosti sanitačních roztoků vůči nežádoucím plísním, jejíž výsledky by byly využitelné v mlékárenské praxi.

Materiál a metody

Použité sanitační roztoky jsou specifikovány v tab. I., plísně (izoláty z pracovní sbírky VÚM) v tab. II. Plísně byly identifikovány na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy pomocí sekvenace oblasti ITS1F, která byla porovnána s databází Gen Bank pomocí programu BLAST. (Poznámka: Ačkoliv je *Bjerkandera adusta* typickou dřevokaznou houbou (Pramad a kol., 2015) a v mléčných výrobcích se běžně nevyskytuje, sýry mohla kontaminovat ze vzduchu, např. přenosem ze skladových prostor s dřevěnými paletami.)

Plísně byly před pokusy čerstvě pomnoženy na GK půdě při 25 °C/5 dnů. GK půda je jako GKCH půda, ale bez chloramfenikolu, tj. v 1 l demineralizované vody bylo rozpuštěno 5 g kvasničného extraktu, 20 g glukosy a 14 g agaru, pH bylo upraveno na 6,6 a půda byla sterilována při 121 °C/15 min.

Tab. II Přehled použitých plísní

Označení kmene	Druh	Původ
A	<i>Penicillium chrysogenum</i>	zrající sýr
B	<i>Penicillium digitatum</i>	zrající sýr
C	<i>Aspergillus sp./A. flavus</i>	zrající sýr
D	<i>Cladosporium sp.</i>	zrající sýr
E	<i>Phoma sp.</i>	jogurt
F	<i>Penicillium crustosum</i>	jogurt
G	<i>Bjerkandera adusta</i>	dohříváný sýr

Agarová difuzní metoda

Jedna očkovací klička testované plísně byla přenesena do 9 ml fyziologického roztoku, čímž vzniklo 0. ředění plísněové suspenze. Odtud bylo po 1 ml 1. a 2. ředění očkováno přelivem do soft GK půdy (s poloviční dávkou agaru). Po utužení byly v půdě vytvořeny otvory

o průměru 7 mm, do kterých bylo dávkováno 100 µl příslušného sanitačního roztoku. Následovala kultivace při 25 °C/3 - 5 dní a pak byly měřeny průměry inhibičních zón.

Metoda simulace sanitace

Plísně nakultivované na GK půdě na Petriho miskách o průměru 90 mm byly přelity cca 30 ml testovaného sanitačního roztoku o dané teplotě (tab. I). Sledováno bylo, jak dobře se plíseň smáčí. Sanitační roztok byl ponechán působit po dobu dle tab. I, přičemž misky s roztokem působícím za horka byly po tuto dobu v termostatu. Poté byl sanitační roztok slit do sběrné nádoby a očkovací kličkou byla plíseň přeočkována na GK půdu. Po kultivaci při 25 °C/3 - 5 dnů bylo hodnoceno, zda plíseň roste.

Výsledky a diskuze

V tab. III jsou výsledky agarové difuzní metody, z kterých vyplývá, že některé sanitační roztoky jsou pro eliminaci plísní vhodnější než jiné, přičemž záleží nejen na koncentraci a typu sanitačního roztoku, ale i na konkrétním složení. Účinností se mezi sebou lišily např. roztoky na bázi peroxidu vodíku 1, 2 a 3 nebo roztoky na bázi chlornanu sodného 9 a 10. Čistě kyselé roztoky 4, 5, 6 a 7 nebo čistě alkalický roztok 8 inhibovaly plísně buď částečně, nebo vůbec. Naopak nejučinnější byly roztoky na bázi N-(3-aminopropyl)-N-dodecylpropan-1,3-diaminu (11) nebo polyhexamethylen guanidin hydrochloridu (12).

Při agarové difuzní metodě aktivní látky z testovaného sanitačního roztoku difundují do živné půdy naočkované plísní a po celou dobu kultivace mohou růst plísně ovlivňovat. To je rozdíl oproti podmínkám během sanitace provozu. Navíc mohou aktivní látky ze sanitačního roztoku interagovat s živnou půdou a tím se vyčerpávat. Tento prob-

Tab. III Průměry inhibičních zón (mm) stanovené agarovou difuzní metodou u sanitačních roztoků 1-12 (tab. I), průměr otvoru 7 mm, n = 2

Sanitační roztok	A <i>P. chrysogenum</i>	B <i>P. digitatum</i>	C <i>A. sp./A. flavus</i>	D <i>Cladosporium sp.</i>	E <i>Phoma sp.</i>	F <i>P. crustosum</i>	G <i>Bjerkandera adusta</i>
1	-	-	-	-	-	-	-
2	13	11	-	16*	12	14	32
3	20	18	16	24	19*	24	44
4	-	20	17	21	-	-	18
5	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-
8	-	21	10	32	-	-	15
9	14*	35	16*	23*	-	14	22
10	-	-	-	-	-	-	-
11	23	33	15	34	22	28	45
12	28	28	20	37	35	30	38

- neinhubuje

* částečná inhibice (v inhibiční zóně prorůstají rezistentní kolonie)

lém lze očekávat především při testování kyselin a alkálií, jejichž vliv na pH může být neutralizován pufrací kapacitou půdy. Pro práci však byla použita soft GK půda, která ve srovnání s jinými půdami obsahuje velmi málo látek bílkovinné povahy aj. pufrujících látek, a tím byl tento problém minimalizován.

Kromě průměru inhibičních zón, agarová difuzní metoda poskytla další zajímavé zjištění, a sice u roztoků na bázi peroxidu vodíku byl na okraji otvoru resp. na okraji inhibiční zóny pozorován zrychlený růst plísní (zejména penicilií A, B, F) a rychlejší tvorba spor. Důvodem pravděpodobně byla nízká koncentrace peroxidu vodíku (bez antifungálního účinku), ze kterého se uvolnil kyslík, který růst plísní stimuloval. Sanitace pomocí roztoků o příliš nízké koncentraci tedy nejen že nevede k očekávané eliminaci plísní, ale v některých případech může problém s výskytem plísní zhoršovat.

V tab. IV jsou shrnuty údaje o smáčivosti plísní, ze kterých vyplývají významné rozdíly mezi jednotlivými testovanými kmeny. Zatímco plísně E *Phoma* sp. a G *Bjerkardera adusta* se sanitačními roztoky smáčely velice dobře, plísně rodů *Penicillium* (A, B a F) a *Aspergillus* (C) se smáčely obtížně až vůbec. Sanitační roztoky na povrchu plísně tvořily kulovité kapky, stékaly či vytékaly z misek a v některých případech dokonce uvolnily půdu, a tak půda s nárůstem plísně plavala na roztoku. To bylo pozorováno i u kyselých či alkalických roztoků o teplotě 60 - 75 °C, a tedy plíseň do přímého kontaktu s horkým roztokem vůbec nepřišla. Vysoká hydrofobicita plísní může vysvětlit zdánlivou rezistenci plísní vůči záhřevu, kterou popisuje Williams (2006).

Získané výsledky naznačují, že pro likvidaci nárůstu plísní je potřeba vybrat sanitační roztok obsahující nejen látky s antifungálním účinkem, ale i látky snižující povr-

Tab. IV Smáčivost plísní detekovaná metodou simulace sanitace u sanitačních roztoků 1-12 (tab. I)

Sanitační roztok	A <i>P. chrysogenum</i>	B <i>P. digitatum</i>	C <i>A. sp./A. flavus</i>	D <i>Cladosporium</i> sp.	E <i>Phoma</i> sp.	F <i>P. crustosum</i>	G <i>Bjerkardera adusta</i>
1	0	-	0	-	+	0	+
2	-	-	-	-	+	0	+
3	0	-	0	-	+	-	+
4	0	-	-	0	+	-	+
5	-	-	-	-	+	-	+
6	0	-	-	-	+	-	+
7	-	+	-	0	+	-	+
8	-	0	0	-	+	-	+
9	-	-	0	-	+	-	+
10	-	0	-	-	+	-	+
11	-	0	-	-	+	-	+
12	-	-	0	-	+	0	+

- plíseň se vůbec nesmáčí
0 plíseň se smáčí, ale s obtížemi
+ plíseň se smáčí dobře

Tab. V Reprodukovatelnost výsledků metod testování účinnosti sanitace plísní u vybraných sanitačních roztoků (tab. I) - výsledky získané třemi různými pracovníky

		A <i>P. chrysogenum</i>	B <i>P. digitatum</i>	C <i>A. sp./A. flavus</i>	D <i>Cladosporium</i> sp.	E <i>Phoma</i> sp.	F <i>P. crustosum</i>	G <i>Bjerkardera adusta</i>
Agarová difuzní metoda	1	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	5	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	9	14*	35	16*	23*	-/-	14	22
		12*	25*	16*	26*		14*	18
		13*	35	10*	29*		27	23
12	28	28	20	37	35	30	38	
		24	22	12*	32	24	22	33
		28	35	10*	37	30	30	25
Smáčivost plísně	1	0/-	-/-	0/0/0	-/-	+ / + / +	0/-/0	+ / + / +
	5	-/-	-/-	-/0/0	-/-	+ / + / +	-/0/-	+ / + / +
	9	-/0	-/-	0/0/-	-/-	+ / + / +	-/0	+ / + / +
	12	-/0/0	-/0	0/-	-/-	+ / + / +	0/0/0	+ / + / +

Pro difuzní agarovou metodu:

- neinhibuje

* částečná inhibice (v inhibiční zóně prorůstají rezistentní kolonie)

Pro hodnocení smáčivosti plísně:

- plíseň se vůbec nesmáčí

0 plíseň se smáčí, ale s obtížemi

+ plíseň se smáčí dobře

chové napětí a tím podporující přímý kontakt sanitačního roztoku a plísně. Zároveň je při sanitaci prostor se zvýšeným výskytem plísní nutné vzít v potaz riziko, že sanitační roztok po použití může s sebou roznášet neusmrcené nesmočené buňky plísní.

Pro testování hydrofobicity buněk existuje i metoda podle Kotzmanidise a kol. (2010), která je primárně určená pro testování probiotických bakterií. Bakterie jsou při ní pomnoženy v bujónu, buňky separovány odstředěním, promyty pufrém a suspendovány v roztoku KNO₃. K suspenzi buněk se přidává xylen a po protřepání se směs nechá rozsádit. Následuje stanovení podílu buněk, které zůstaly ve vodné fázi. Tato metoda je vhodná pro porovnání hydrofobicit různých kmenů bakterií a mohla by být aplikována i na spory plísní. Avšak k otestování sanitačních roztoků použít nelze, protože sanitační roztoky jsou dobře mísitelné s vodou, a tedy k oddělení fází nedochází.

Po nasimulování podmínek sanitace byly plísně přeočkovány na GK půdu a sledováno bylo, zda rostou. U většiny kombinací sanitačních roztoků 1-12 a plísní A-G k nárůstu plísní po sanitaci došlo, výjimkou byl roztok 2 vůči plísním E a F, roztok 5 vůči plísní D a roztoky 8 a 11 vůči plísním E a D. Důvodem mohlo být, že sanitační roztok neměl dostatečný antifungální účinek a/nebo plíseň nebyla sanitačním roztokem dostatečně smočena a/nebo přeočkována byla část plísně, na kterou účinek sanitačního roztoku přes mycelium nepronikl. Nevhodnost této části metodiky byla potvrzena při zopakování pokusu dvěma dalšími pracovníky s roztoky 1, 5, 9 a 12 vůči plísním A-G. U jednoho pracovníka roztok 5 inhiboval plísně D a E

a roztok 9 plíseň D, u druhého pracovníka roztok 5 plíseň D a roztok 9 plíseň D a F. Výsledky těchto tří opakování nejsou srovnatelné a ani jinak nekorelují s ostatními zjištěnými údaji.

Naopak velmi dobré shody bylo dosaženo při porovnání výsledků tří pracovníků pro agarovou difuzní metodu a hodnocení smáčivosti plísní (tab. V). Při agarové difuzní metodě se výsledky všech tří pracovníků shodovaly v rozlišení, zda inhibiční zóna vzniká nebo ne, avšak u některých vzorků byly rozdíly v hodnocení velikosti zóny, protože ta závisí na množství naočkované plísně, objemu půdy nalité na misku, přesnosti výkroje otvoru a dalších geometrických faktorech.

Při hodnocení smáčivosti plísně se výsledky všech tří pracovníků shodovaly, pokud se plíseň smáčela dobře. Rozdíly byly zaznamenány mezi hodnoceními "0" (plíseň se smáčí s obtížemi) a "-" (plíseň se vůbec nesmáčí), protože se jedná o subjektivní zhodnocení míry, jak obtížné je plíseň smočit. Nicméně navržená tříbodová stupnice se jeví jako žádoucí z hlediska rozhodování - "-" je zcela nevyhovující stav, "0" indikuje dílčí zlepšení a směr, kterým se ubírat při hledání řešení a "+" naprosto uspokojivý výsledek. Při posouzení smáčivosti plísně panelem pracovníků laboratoře se spolehlivost výsledku zvyšuje.

Závěr

Při řešení problému s výskytem plísní v mlékárenských aj. provozech je jedním z opatření sanitace prostor a zařízení sanitačními roztoky s antifungálním účinkem. Při výběru sanitačních roztoků je vhodné nespolehat se jen na doporučení dodavatele, ale také účinnost sanitačních roztoků vůči vlastním plísním otestovat. Pro tento účel byla navržena metoda kombinující agarovou difuzní metodu a hodnocení smáčivosti plísně za podmínek simulujících podmínky sanitace.

Poděkování

Děkujeme RNDr. Aleně Kubátové, CSc. a Mgr. Vítu Hubkovi z Katedry botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze za pomoc s identifikací izolátů plísní.

Tato práce vznikla s finanční podporou NAZV, projekty QJ1210300 a QJ1210302 v programu KUS.

Literatura

- CLSI M38-A2 (2008): Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, USA. ISBN 1-56238-668-9.
- ČSN EN 1650 + A1 (2013): Chemické dezinfekční přípravky a antiseptika - Kvantitativní zkouška s použitím suspenze ke stanovení fungicidního účinku nebo účinku proti kvasinkám chemických dezinfekčních přípravků a antiseptik používaných v potravinářství, průmyslu, domácnostech a veřejných zařízeních - Metoda zkoušení a požadavky (fáze 2/ stupeň 1). Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, Praha, Česká republika.
- KOTZMANDIS, CH., KOURELIS, A., LITOPOULOU-TZANETAKI, E., TZANETAKIS, N., YIANGOU, M. (2010): Evaluation of adhesion capacity, cell surface traits and immunomodulatory activity of presumptive probiotic *Lactobacillus* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 140, s. 154 - 163.

- NĚMEČKOVÁ, I., KUNOVÁ, G., CHRAMOSTOVÁ, J., LISOVÁ, I., ŠALAKOVÁ, A., ROUBAL, P. (2014): Příklady nových výrobků, technologií, analytických metod a dalších výsledků pro praktické využití mlékárnami. Sborník přednášek, s. 81 - 84. Kroměřížské mlékařské dny, 17. - 18. 9. 2014, Kroměříž, Česká republika.
- PRAMOD, S., KOYANI, R.D., BHATT, I., VASAN, A.M., RAO, K.S., RAJPUT, K.S. (2015): Histological and ultrastructural alterations in the *Ailanthor excelsa* wood cells by *Bjerkandera adusta* (Wild) P. Karst. *Int. Biodeterior. & Biodeg.* 100, s. 124 - 132.
- SØRHUNG, T. (2011): Yeasts and moulds - Spoilage moulds in dairy products. V knize Fuquay, J.W. (Ed.): *Encyclopedia of dairy science*, Second edition, pp. 780 - 784. Elsevier, Amsterdam, Nizozemí. ISBN 978-0-12-374407-4.
- WILLIAMS, A.P. (2006): Other types of spoilage moulds. V knize Blackburn, C. de W. (Ed.): *Food spoilage microorganisms*, pp. 488 - 503. CRC Press, Cambridge, Velká Británie. ISBN 0-8493-9156-3.

Přijato do tisku: 8. 9. 2015

Lektorováno: 20. 9. 2015

VYUŽITÍ RŮZNÝCH DRUHŮ SYROVÁTKY PRO VÝROBU FERMENTOVANÝCH NÁPOJŮ S OBSAHEM ALKOHOLU A SYCENÝCH SYROVÁTKOVÝCH NÁPOJŮ

V. Zikán, Ing. A. Šalaková, CSc., M. Pechačová
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Using various kind of whey for production fermented drinks with alcohol content and carbonated whey drink

Abstrakt

Syrovátka byla donedávna považována za odpadní látku nejvýše vhodnou ke krmným účelům. Postupem času a s rozvojem poznání nutričních benefitů jejich složek a separačních a zpracovatelských technologií se z ní stala vhodná surovina pro jejich získávání a pro jejich následnou aplikaci v mnoha potravinářských oborech i ve farmacii. Efektivní zpracování a využití syrovátky je možné především při zpracování velkých objemů produktu. Naše pozornost byla věnována využití syrovátky z výroby sýrů a tvarohů z mléka kravského, ovčího a kozího, abychom získali poznatky, které lze v tomto směru uplatnit především v malovýrobě farnovního zpracování uvedených druhů mlék. Zaměřili jsme se na návrhy receptur nápojů a postupy výroby, ve kterých by byla syrovátka z uvedených druhů mlék uplatněna. Zkoumali jsme možnosti výroby syrovátkových nápojů ze syrovátky z uvedených druhů mlék, jak kyselé, tak sladké, s přidávkem sladového extraktu a fermentované vybranými kmeny kvasinek. Vznikl tak nápoj s obsahem