

576.882.8.095.18[:547.294—939]:664.9
613.281[576.85]:615.777[582] [:547.292—939]

FUNGICIDNÍ VLIV KYSELINY PEROCTOVÉ NA MIKROFLÓRU MASA

Podplukovník dr. Václav HRUŠKA, podplukovník dr. Michal TOČÍK

Technická spolupráce: Marcela Kovářová, Miloslav Háha

Hygienicko-epidemiologický oddíl, Plzeň

V iniciální fázi rozkladných procesů u déle skladovaného masa dochází nejdříve k rapidnímu zvýšení počtu mikroorganismů a zároveň k objevení plísní. Plísně vegetují zejména v různých záhybech, kde se uchovává vlhkost. Podle druhu plísně pak maso dostává různou barvu a zápach.

Efektivní metodou boje proti kažení masa je jeho uchování v atmosféře 10—20 % CO₂. Tento způsob skladování je však spojen se značnými obtížemi. Golovkin, Danilov, Günter a Matschullat (1, 2, 3) doporučují proti kažení masa a masných výrobků aplikaci ultrafialového záření. Úplného zničení plísňových spór se však nedosáhne ani za dobu 24 hodin při vzdálenosti zdroje 25 cm. Dyklop (4) zjistil, že účinnějším prostředkem proti plísním je oxidifenolát natria (preparát F-5). V prostorech natřených tímto preparátem se zamezil růst plísní na dobu 9—12 měsíců.

Vhodnější je však kombinace prostorové dezinfekce s povrchovým působením prostředku na produkt. Těmto podmínkám odpovídá kyselina sorbová a vitamín K. Melnick, Vahlteich (5), Robinson, Hills (6) a Rollin, Smith (7) se zmiňují o využití kyseliny sorbové jako prostředku proti plesnivění sýrů, láků, cukrovinek, ovoce a šťáv.

V lékařství v poslední době získalo velkou popularitu protiplísňové antibiotikum nistatin. Jeho vliv na sekundární mykózy ověřili Tebjakina (8), Šorin, Goldberg (9), Limans (10). Nistatin je málo toxický, špatně se vstřebává střevní stěnou a adaptace plísní k němu téměř chybí. Jeho fungicidní a fungistatický účinek vyzkoušeli Wacovitz a Pansy (11), kteří ponořovali křídla a nohy kuřat na 1—2 hod. do roztoku nistatinu a chlortetracyklinu, což mělo za následek potlačení růstu plísní a kvasinek.

Ticháček (12), v souladu s našimi výsledky, doporučuje jako fungicidní prostředek kyselinu peroctovou. Z těchto důvodů jsme se rozhodli ověřit vliv kyseliny peroctové na plesnivění masa v závislosti na délce jeho skladování.

Materiál a metodika

Fungicidní účinek kyseliny peroctové byl v první řadě ověřen in vitro. K testování bylo použito čisté izolované kultury plísně *Penicilium citrinum*, vyskytující se na hovězím masu.

Ze vzrostlé kultury na Sabouraudově agaru byly vykrojeny kruhové terčičky o průměru 1 cm. Výkrojky byly v Petriho misce převrstveny 10 ml roztoku kyseliny peroctové v koncentracích

0,5%, 1% a 2%, s dobou expozice 5, 10 a 15 minut. Po protřepání byly výkrojky omyty tekoucí sterilní vodou po dobu 15 minut. Inhibiční účinek kyseliny peroctové byl sledován v subkulturně v tekuté Sabouraudově půdě. Sledování inhibičního působení kyseliny peroctové bylo provedeno pro každou koncentraci a expozici ve 100 zkumavkách. Po inkubaci při 20—23° C bylo po šesti týdnech provedeno odečítání výsledků.

V další etapě byl vyzkoušen inhibiční vliv kyseliny peroctové na plísně přímo na dvaceti vzorcích masa. Plátky hovězího masa o rozměru 5 × 8 cm a síle 0,5—1 cm byly namáčeny ve třech koncentracích kyseliny peroctové. Takto ošetřené plátky byly pak vloženy do termostatu a přechovávány při konstantní teplotě 23° C a relativní vlhkosti 75—95 %. Plesnivění plátek, z hlediska stupně růstu, bylo hodnoceno kvantitativně.

Jako první stupeň plesnivění byly hodnoceny vzorky s izolovanými koloniemi na ploše 80 cm² do počtu dvou kolonií a průměrné velikosti 1—2 mm. Druhým stupněm plesnivění bylo hodnoceno pokrytí 10—20 % povrchu oddělenými koloniemi a lehkými shluky. Za třetí stupeň intenzivního růstu bylo pokládáno pokrytí 30—50 % povrchu vzorku kompaktní vrstvou plísní. Nakonec byl sledován kvantitativní stupeň růstu plísní na 250gr kouscích hovězího masa po ošetření kyselinou peroctovou po dobu šesti dnů a zároveň sledovány následné smyslové změny.

Souběžně s procesem plesnivění byla sledována tvorba amoniaku v obou sériích pokusů. Stanovení NH₃ bylo prováděno titrací na Tashirův indikátor z vodního výluhu vzorku vytěsněním amoniaku K₂CO₃ a jeho absorpcí v H₃BO₃.

Výsledky a diskuse

Pokusná sledování in vitro ukázala, že 0,5% roztok kyseliny peroctové při expozici 15 minut má na *Penicilium citrinum* průkazný fungicidní účinek. Při 1% a 2% koncentraci dochází v průběhu 5 minut k zástavě růstu a k usmrcení plísňových spór.

Na zkoušených plátcích hovězího masa vyrůstají ojedinělé kolonie u neošetřeného masa za 41 hodin skladování. U masa ošetřeného 0,1% roztokem kyseliny peroctové se objeví ojediněle kolonie plísní za 55 hodin. 1% roztok zmíněné kyseliny prodlužuje dobu nástupu plísní na 89 hodin.

Střední růst plísní byl u kontrolního vzorku masa zaznamenán za 58 hodin. Po dezinfekci vzorku 0,1% roztokem kyseliny peroctové dosta-

Tabulka 1

Doby postupného narůstání plísní na plátcích hovězího masa po dezinfekci kys. peroctové v hodinách

Koncentrace kys. peroctové v %	Kvantitativní stupeň růstu		
	odděl. kolonie	střední růst	intenzivní růst
0,1	55	58	106
1,0	89	106	125
Kontrola	41	79	86

vuje se střední stupeň růstu za 79 hodin a při použití 1% roztoku teprve za 106 hodin.

K intenzivnímu růstu plísní dochází u nedezinfikovaného masa za 86 hodin, po aplikaci 0,1% roztoku kyseliny peroctové za 106 hodin a při použití 1% roztoku kyseliny peroctové za 125 hodin. Jednotlivé doby udává tabulka 1.

Při sledování procesu plesnivění na 250gr kouscích hovězího masa ošetřeného kyselinou peroctovou bylo zjištěno, že ve srovnání s kontrolou způsobuje 0,1% roztok zkoušené kyseliny prodloužení nástupu plísní o 2 dny a 1% koncentrace dokonce o 5 dní.

Střední růst plísní na 250gr vzorku ošetřeného 0,1% kyselinou peroctovou počíná, oproti kontrole, o 1 den později a po jeho ošetření 1% koncentrací o 4 dny později.

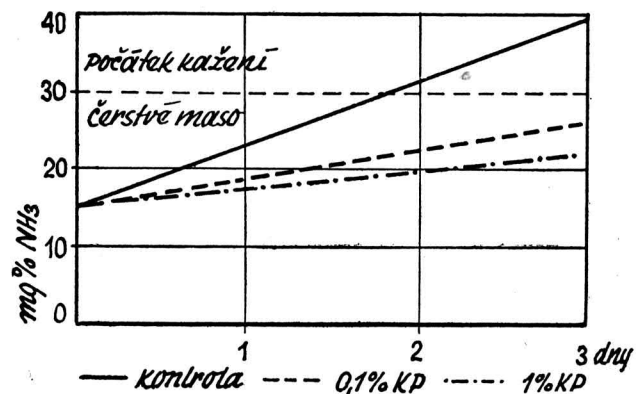
Intenzivní růst plísní u kontrolních vzorků se objevuje čtvrtý den, na rozdíl od vzorků ošetřených kyselinou peroctovou. Aplikace 0,1% roztoku, jak udává tabulka 2, oddaluje začátek plesnivění o 1 den a 1% roztoku o 4 dny.

Obsah NH_3 byl v obou sériích pokusů sledován denně. Z grafu 1 je patrné, že obsah čpavku u ošetřených plátek masa je podstatně nižší než hodnota u kontrolního vzorku. Průběh všech tří hodnot je lineární a u ošetřených vzorků kvalitativně i kvantitativně nižší. U 250gr vzorků masa je průběh koncentrace NH_3 rovněž lineární a do 3. dne povolna stoupá. Počínaje 4. dnem se jeho hladina výrazněji zvyšuje, avšak ve vztahu k limitní hodnotě počátku kažení zůstává i šestý den skladování pod úrovní. V obou případech, na rozdíl od koncentrace v kontrolním vzorku, jsou hodnoty čpavku, v závislosti na koncentraci použité kyseliny peroctové u ošetřených vzorků, nižší.

Tabulka 2

Vliv kyseliny peroctové na narůstání plísní na hovězím mase — 250 gr, vyjádřené ve dnech (24 hod.)

Koncentrace kys. peroctové v %	Kvantitativní stupeň růstu		
	odděl. kolonie	střední růst	intenzivní růst
0,1	4	4	5
1,0	7	7	8
Kontrola	2	3	4

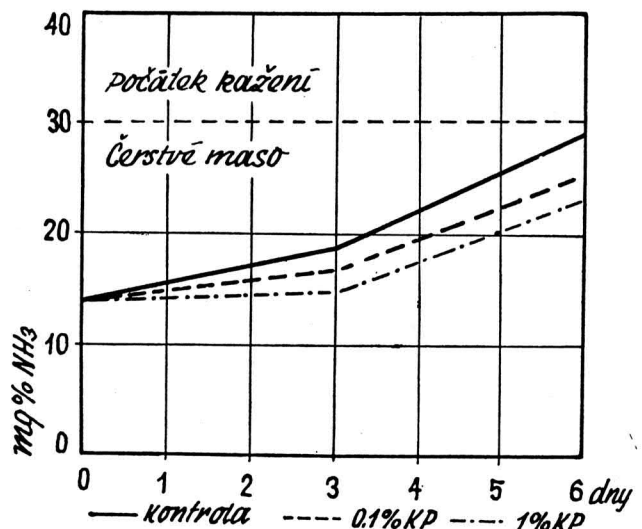


Graf 1

Závislost koncentrace amoniaku ve vzorcích hovězího masa na délce přechovávání

Smyslové ohodnocení pokusných vzorků ukázalo, že při použití 0,1% roztoku kyseliny peroctové se smyslové vlastnosti vzorku masa prakticky nemění, zatímco po ošetření 1% kyselinou peroctovou dochází ke změně vybarvení masa. Maso dostává nepřirozenou šedobílou barvu a charakteristická vůně je zastřena typickým zápachem kyseliny peroctové.

I přes to, že uvedená práce má orientační ráz, jsou její výsledky v mnoha směrech pozoruhodné. Ukazuje se totiž, že kyselina peroctová dobu nástupu autolytických a rozkladných procesů skladovaného masa významně prodlužuje. Za ukazatel procesu plesnivění bylo vzato *Penicillium citrinum* proto, že jeho výskyt na mase je téměř standardní. Kromě uvedené plísně se vyskytuje obvykle *Fusarium*, *Aspergillus* a *Mucor*. U plátek ošetřených kyselinou peroctovou byl nejčastěji nalezen kmen *Aspergillus*. Snížení



Graf 2

Obsah amoniaku v 250gr vzorcích masa ošetřených kyselinou peroctovou v závislosti na délce skladování

fungicidního vlivu bylo způsobeno ochranným vlivem bílkovin masa. Přesto však prodloužení nástupu plesnivění masa po ošetření 0,5% roztokem kyseliny peroctové, vyjádřeno t-testem, je statisticky významné: $0,05 > P > 0,01$.

Nabízí se proto myšlenka ověřit inhibiční vliv kyseliny peroctové na větších anatomických celcích při skladování masa.

Z fungicidního vlivu zkoušené kyseliny a z opožděné tvorby amoniaku, jako ukazatele rozkladných procesů, lze soudit, že kyselina peroctová dává potřebné podklady pro její širší ověření, popřípadě pro její praktické využití k prodloužení skladovací doby masa.

Závěr

1. U vzorků masa ošetřených 0,1% roztokem kyseliny peroctové oddaluje se proces plesnivění masa skladovaného při teplotě 20–23° C a relativní vlhkosti 75–95 % o dva dny.
2. Koncentrace amoniaku ve sledovaných vzorcích nedosahuje po ošetření 250gr vzorku

0,1% roztokem zkoušené kyseliny limitní hodnoty, oproti kontrole, ani šestý den skladování.

3. Za uvedených podmínek nedochází u ošetřeného masa, v souvislosti s působením kyseliny peroctové, k smyslovým změnám.

Souhrn

Autoři sledovali inhibiční vliv kyseliny peroctové na nativní plísňovou mikroflóru hovězího masa. Bylo zjištěno, že kyselina peroctová chrání maso před nástupem iničiálních příznaků kažení masa.

Literatura

1. Golovkin H. A.: Mjasnaja industrija 2, 39, 1952.
2. Danilov M. M.: Sanitarija i gigiena 9, 39, 1947.
3. Matschullat, Günter: Fleischwirtschaft, 10, 19, 631.
4. Dyklop B. K.: Mjasnaja industrija, 4, 69, 1952.
5. Melnick D., Vahlteich H.: Food Res., 21, 1, 133, 1956.
6. Robinson J. F., Hills C. H.: Food Technol., 13, 5, 251, 1954.
7. Rollin N. J., Smith D. P.: Food Technol., 8, 3, 133, 158.
8. Tebjakina A. E., Čajkovskaja C. M., Berezina E. K.: Antibiotiki, 3, 40, 1958.
9. Šorn V. A., Goldberg L. E.: Klin medicina, 2, 32, 1957.
10. Limans M. C., Bonissol W. F., Davis E. W.: Antibiotika Annual., 69, 1955–1956.
11. Wacowitz H., Pansy F.: Poultry Sci., 36, 4, 843, 1957.
12. Ticháček B.: VZL., 33:2, 45, 1964.