

613.26:614.484/547.292—939/

O MOŽNOSTECH VYUŽITÍ KYSELINY PEROCTOVÉ V DEZINFEKCI OVOCE A ZELENINY

Podplukovník dr. Václav HRUŠKA, podplukovník dr. Michal TOČÍK
Technická spolupráce: Marcela Kovářová, Miloslav Háha
Hygienicko-epidemiologický oddíl Plzeň

Základním předpokladem úspěšné aplikace každého dezinfekčního prostředku v potravinářské praxi je především jeho vysoká baktericidní účinnost. Mimo jiné se dále vyžaduje, aby desinficiens mělo indiferentní vztah k ultrajemným biologickým strukturám dezinfikovaných potravin. Pro tyto požadavky a řadu dalších je problému dezinfekce potravin v literárních pracích věnováno poměrně málo pozornosti.

Ovoce a zelenina jsou všeobecně uznávaným faktorem přenosu alimentárních infekcí. Nedostatečné dodržování hygienických zásad při pěstování, sklizni, distribuci a prodeji způsobuje, že obvyklá kontaminace těchto plodin obnáší, podle Hodera, řádově až 10^4 bakteriálních jedinců.

Již toto samotné zjištění by se mělo stát indikací pro řádnou dezinfekci ovoce i zeleniny, než se dostane ke spotřebiteli. Přihlédneme-li k tomu, že značná část ovoce i zeleniny se konzumuje v nativním stavu, pak požadavek důkladné dezinfekce je zde více než opodstatněný a stává se nezbytnou součástí hygienického a protiepidemického zabezpečení zdravé výživy.

Zvláštního významu nabývá tato otázka ve vojenských kolektivech v míru a zvláště pak za války, kdy do popředí se dostávají otázky de-

zinfekce potravin nebo obalů vůbec. Otázkou dezinfekce potravin se zabývala např. Mlčochová [1], která sledovala snížení počtu zárodků s povrchu ovoce prostým omýváním. Gundel, Kliewe, Gutzeit navrhnou spařování ovoce ve vřelé vodě, stejně tak u zeleniny (Raška, Málek). K vypírání ovoce a zeleniny je navrhován slabý roztok hypermanganu (Raška, Kliewe).

Halačka, Nezval [2] ověřovali domácí přípravek obchodní značky Septonex a jeho baktericidní účín srovnávali s přípravkem zahraniční provenience zn. Tego 51. Na základě vyššího, statisticky významného účinku Septonexu vůči některým mikroorganismům soudí, že přípravek bude možno využít jako sanitační látky v potravinářské praxi, zejména k dekontaminaci obalů a různého zařízení.

První literární zmínku o dezinfekčních vlastnostech kyseliny peroctové přináší Greenspan, Kellar [3] v roce 1951. Autoři ji použili k ošetření rajských jablíček. Gershenfeld [4] sledoval vliv kyseliny peroctové na původce kyselého kvašení rajských jablíček. První výsledky zkoušky kyseliny peroctové předložil u nás v r. 1962 Ticháček [5]. Později ve spolupráci s Havlem vyzkoušeli také její přípravu reakcí acetylního peroxidu s peroxidem vodíku a vyřešili otázku její stabilizace.

Na základě výsledků, kterých dosáhl Ticháček, rozhodli jsme se ověřit in vitro a na modelovém pokusu možnosti dezinfekce potravin, zejména ovoce a zeleniny, kyselinou peroctovou. Pro tento účel jsme zvolili hlávkový salát, jednak pro náročnost na dezinfekci, jednak pro možnost sledování vztahu mezi kyselinou askorbovou a zkoušeným desinficiens.

Metodika a pracovní postupy

V první části byl sledován vliv několika koncentrací kyseliny peroctové na kvasinkové a plísňové organismy in vitro za použití suspenzní metody.

1. Příprava suspenzí

Z plísňových 7–10 dní starých kultur byla vytvořena ve fyziologickém roztoku suspenze odpovídající v silnější vrstvě zákalu 1 mg bariumsulfátu (90 mg bariumchloridu na 100 ml vody + 2 kapky 1 n H₂SO₄).

U kvasinek po třech pasážích testovaného kmene na pevné půdě, po 3denní kultivaci byla poslední kultura smyta 10 ml fyziologického roztoku. Smyvy ze tří půd se smísí a třepáním se skleněnými perlami se docílí rovnoměrné suspenze, která se srovná s McFarlandovou řadou.

2. Vlastní pokus

0,1 ml suspenze zkoušeného kmene se napijetuje za pokojové teploty (18–20° C) do prostřed Petriho misek a převrství se 10 ml příslušného ředění zkoušeného preparátu. Po uplynutí expoziční doby se vyočkuje 1 klička (Ø 4 mm) suspenze s dezinfekčním roztokem do 10 ml živné půdy. Kultivace kvasinek a plísní probíhá při pokojové teplotě a odečítá se po 48 a 72 hodinách u kvasinek, po 7, 14 a 21 dnech u plísní.

V druhé části se při praktickém ověřování dezinfekčního účinku kyseliny peroctové na hlávkový salát postupovalo takto:

Kruhové výkrojky listů salátu ze stejných míst byly převrstveny 10 ml kyseliny peroctové ve dvou koncentracích a exponovány různě dlouhou dobu. Po opláchnutí sterilní tekoucí vodou byly výkrojky vytřepány v 10 ml sterilního fyziologického roztoku, načež 0,5 ml výtřepku bylo vyočkováno na MPA.

Po 48hod. kultivaci při 37° C se stanovil celkový počet vzrostlých mikroorganismů a pak provedena jejich morfologická diferenciaci.

Pak byly výkrojky salátu postříkány suspenzí kultury *Staphylococcus pyogenes* (č. prot. 5458) a *Serratia marcescens* (Sb. kmen č. 3) o hustotě podle McFarlandovy řady č. 1. Průměrná velikost kapky byla 1,17 μ (opravný faktor 6). Počet mikrobů na ploše 1 cm² byl 100 000. Na závěr byl ověřen dezinfekční účinek kyseliny peroctové na jednotlivé čtvrti salátu. Obsah kyseliny l-askorbové byl sledován podle ČSN 568012 titrací 2,6 — dichlorfenolindolfenolem.

1. Výsledky a diskuse

Při sledování vlivu zkoušené kyseliny na plísně bylo prokázáno sérií pokusů in vitro (tab. 1), že k inhibici růstu *Aspergillus niger* dochází při koncentraci 0,1% a expozici 15 minut, zatímco kmen *Fusarium* hyne při koncentraci 0,01% a expozici 10 minut. Při desetinásobném zvýšení koncentrace se úměrně zkracuje expoziční doba na 1 minutu. Inhibice kmene *Penicillium notatum* se dostaví při koncentraci 0,1% a expoziční době 5 minut.

U kvasinek (tab. 2) dochází k inhibici již při koncentraci 0,01% roztoku kyseliny peroctové při expozici 5 minut. Růst kmene *Saccharomyces cerevisiae* zastavuje koncentrace 0,001% při expozici 10 minut.

Dezinfekční účinek kyseliny peroctové na mikrobiální flóru hlávkového salátu je znázorněn na grafu 1. Koncentrace 0,01% při expozici 5 minut usmrcuje 80 % a při desetinásobně vyšší koncentraci 92,5 % všech zárodků. Doba působení v délce 15 minut představuje další progresivní pokles celkového počtu zárodků. U 0,01%

DRUH PLÍSNĚ	KONCENTRACE V %	EXPOZICE V MIN.						KONTROLA
		1	5	10	15	30	60	
<i>Penicillium notatum</i>	0,1	■	■	■	■	■	■	■
	0,01	■	■	■	■	■	■	■
	0,001	■	■	■	■	■	■	■
	0,0001	■	■	■	■	■	■	■
	0,00001	■	■	■	■	■	■	■
<i>Aspergillus niger</i>	0,1	■	■	■	■	■	■	■
	0,01	■	■	■	■	■	■	■
	0,001	■	■	■	■	■	■	■
	0,0001	■	■	■	■	■	■	■
	0,00001	■	■	■	■	■	■	■
<i>Fusarium</i>	0,1	■	■	■	■	■	■	■
	0,01	■	■	■	■	■	■	■
	0,001	■	■	■	■	■	■	■
	0,0001	■	■	■	■	■	■	■
	0,00001	■	■	■	■	■	■	■

Tabulka 1

Účinek kyseliny peroctové na plísňové mikroorganismy

DRUH KVASINEK	KONCENTRACE V %	EXPOZICE V MIN.						KONTROLA
		7	5	10	15	30	60	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,1	■	■	■	■	■	■	■
	0,01	■	■	■	■	■	■	■
	0,001	■	■	■	■	■	■	■
	0,0001	■	■	■	■	■	■	■
	0,00001	■	■	■	■	■	■	■
<i>Candida albicans</i>	0,1	■	■	■	■	■	■	■
	0,01	■	■	■	■	■	■	■
	0,001	■	■	■	■	■	■	■
	0,0001	■	■	■	■	■	■	■
	0,00001	■	■	■	■	■	■	■

■ všechny pozitivní ▨ částečný účinek □ všechny negativní

Tabulka 2

Účinek různých koncentrací kyseliny peroctové na kvasinkové organismy

koncentrace obnáší podíl neživých 90 % a u 0,1% roztoku již 93,5 %. Snížení celkového počtu zárodků po aplikaci 0,1% kyseliny při expozici 5 minut je statisticky signifikantní ($P > 0,001$).

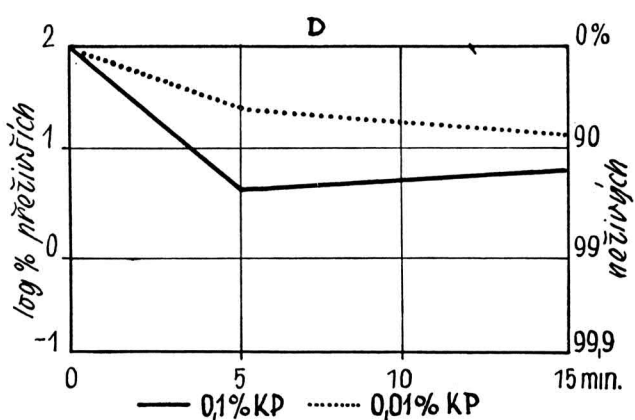
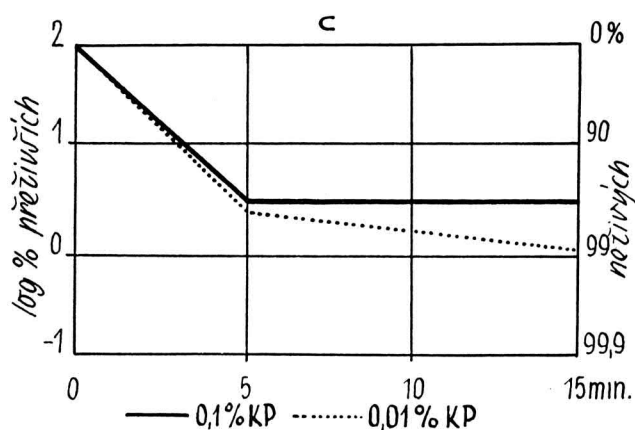
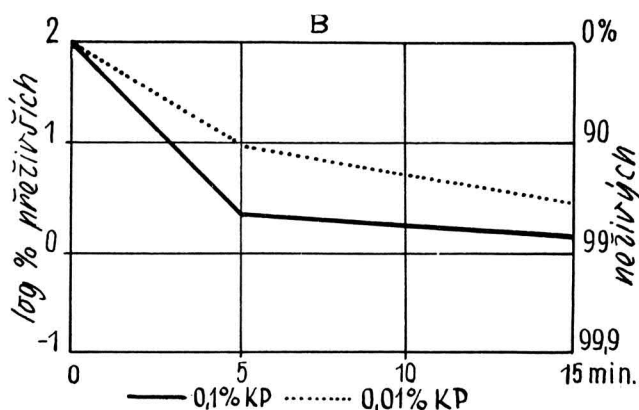
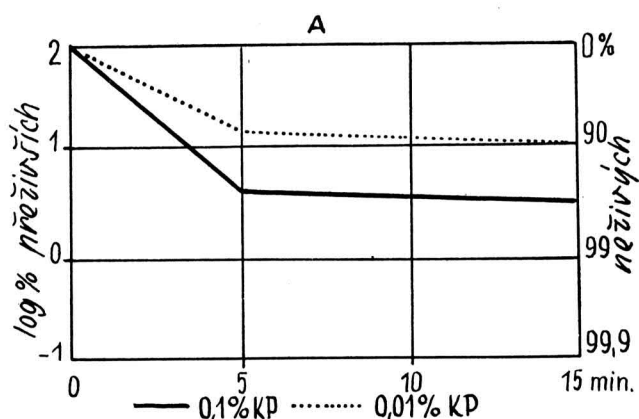
Z porovnání účinku kyseliny peroctové na jednotlivé morfologické skupiny mikroorganismů je patrné, že při 15minutové expozici dochází ke snížení koků o 94–98 %. U tyčinek je efekt obdobný a v případě 0,01% koncentrace, při expozici 15 minut, ještě výraznější.

U sporulujících mikrobů jsme se setkali s poněkud vyšší rezistencí. Přesto však procento neživých za expozice 15 minut vykazuje hodnotu 80–91 % úbytku.

Účinný baktericidní vliv kyseliny peroctové byl prokázán na kmeny *Staphylococcus pyogenes* a *Serratia marcescens*, kterými byl salát kontaminován. Následná dezinfekce 0,01% koncentrací při expozici 5 minut představuje u *Serratia marcescens* 94,5 % a u *Staphylococcus pyogenes* 99 % usmrcených jedinců. Statistická významnost činí $P > 0,001$. Rovněž hodnocení výsledků dezinfekce jednotlivých čtvrtí salátu metodou srovnání středních hodnot ($51 > 17,16$) ukazuje na statistickou významnost výskytu negativních subkultur.

Graf 1

Dynamika hynutí mikroorganismů v průběhu dezinfekce hlávkového salátu kyselinou peroctovou. A — koky; B — tyčinky; C — aerobní sporulující organismy; D — celkový počet zárodků



Vztah mezi kyselinou peroctovou a obsahem vitamínu C v dezinfikovaném salátu je znázorněn na grafu 2. Ukázalo se, že největší pokles kyseliny l-askorbové byl zaznamenán při koncentraci 0,1% a expozici 15 minut. Obsah kyseliny l-askorbové poklesl za těchto podmínek o 6,64 mg%, tj. na 71,9 % hodnoty obsahu této kyseliny v nedezinfikovaném salátu.

Při ošetření salátu 0,01% roztokem kyseliny peroctové a expozici 15 minut činil úbytek kyseliny l-askorbové 2,92 mg%. V posledním případě zůstává v salátu zachováno 72,38–78,07 % kyseliny l-askorbové.

Na zkoušených vzorcích k podstatným smyslovým změnám nedošlo.

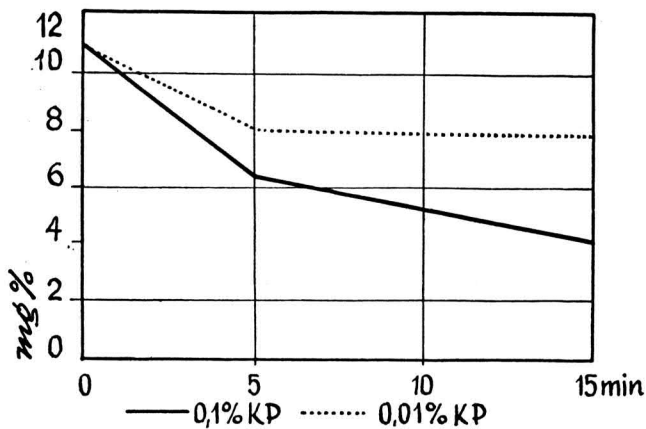
Získané výsledky potvrzují, že u kyseliny peroctové jde o desinficiens vynikajících vlastností. Ze tří testovaných druhů plísní nejvyšší dezinfekční účinek se projevil na kmen *Fusarium* a *Penicillium notatum*. Relativně nižší účinek se projevil u kmene *Aspergillus niger*. Spolehlivý fungicidní účinek dává koncentrace 0,1% při expozici 15 minut.

Testované druhy kvasinek jsou řádově citlivější a jejich růst kyselina peroctová spolehlivě inhibuje v koncentraci 0,01% a expozici 5 minut.

Pokládáme ještě za nutné zdůraznit, že provedení neutralizace jako základní metodické podmínky se ukázalo, vzhledem k výjimečným chemickým vlastnostem kyseliny peroctové, jako

Graf 2

Působení kyseliny peroctové na obsah kyseliny l-askorbové v hlávkovém dezinfikovaném salátu



bezpředmětné. Značné ředění v subkultuře, řádově až 10^{-5} , a zejména samovolný rozpad zkoušeného desinficiens na výchozí komponenty mají za následek prakticky nulový inhibiční vliv.

Za významné zjištění lze pokládat skutečnost, že v průběhu dezinfekčního procesu dochází pouze k částečnému poklesu hladiny vitamínu C při zachování organoleptických vlastností dezinfikovaného salátu. Citlivost a jemná struktura lístků salátu nás opravňuje domnívat se, že u ostatních druhů zeleniny, zvláště pak kořenové, a u ovoce by mohly být uvažované ztráty na biologické hodnotě zcela zanedbatelné.

V tomto smyslu se zde nabízí celá řada dal-

ších možností ověření uvedených dezinfekčních vlastností kyseliny peroctové a získání dostatečných podkladů pro jejich praktickou aplikaci.

Závěr

1. Kyselinu peroctovou lze charakterizovat jako účinný prostředek pro dezinfekci ovoce a zeleniny v optimální koncentraci 0,01% při expozici 5 minut.
2. Za těchto podmínek se dostavuje pokles bakteriální flóry u hlávkového salátu o 75%. Desetinásobně vyšší koncentrace při stejné expoziční době způsobuje redukci o 93,5%.
3. V procesu dezinfekce dochází pouze k nepodstatnému snížení biologické hodnoty bez ovlivnění smyslových vlastností.

Souhrn

Autoři sledovali dezinfekční účinek kyseliny peroctové na mikrobiální flóru hlávkového salátu. Na základě četných pokusů zjistili, že jde o dezinfekční prostředek vynikajících vlastností, kterého by bylo možno využít k dezinfekci ovoce a zeleniny.

Literatura

1. Mlčochová, L.: Wiener Med. Wochenschrift, 37, 1941.
2. Gershenfeld, D.: A. J. of Pharmacy, 124, 10, 337, 1952.
3. Greenspan, Kellar: Food Technol., 5, 96, 1951.
4. Gershenfeld, D.: A. J. of Pharmacy, 124, 10, 337, 1952.
5. Ticháček, B.: VZL, 5, 222—227, 1962.
6. Ticháček, B.: VZL, 2, 45—51, 1964.
7. Kliewe a spol.: Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel, Stuttgart 1958.
8. Raška, K.: Dezinfekce, dezinfekce, deratizace, II. vyd. SZdN. Praha 1956.
9. Ticháček, B.: VZL, 7, 312—314, 1956.