



Ultrafiltry Synthesia (UFS) - moderní mikrobiologická metoda v potravinářském průmyslu

MILOŠ MERGL, Výzkumný ústav mlékárenský, Praha

68.087.38

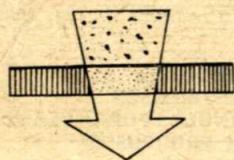
Mikrobiologické vyšetřovací metody byly použitím membránových filtrů = ultrafiltrů Synthesia (dále již jen MF nebo UFS) obohaceny o další metodiku, která je vhodná pro řadu vyšetření. Princip metody spočívá v nahromadění mikroorganismů z mikrobiálně znečištěných tekutin na poměrně malém povrchu filtru (*obr. 1*). Mikroorganismy se na UFS zjišťují buď přímo (mikroskopicky), anebo kultivací mikroorganismů, resp. mikrobiálních kolonií

přímo na UFS (*obr. 2*). Živné látky z podložní půdy (obvykle agarové) difundují ultrafiltrem během inkubace a umožňují narůstání kolonií. Přednosti stanovení na UFS jsou hlavně v jednoduchosti a spolehlivosti a v možnosti dosažené výsledky uchovávat (bakteriogram).

Použití MF (UFS) nalezlo ve světě i u nás široké uplatnění v těchto oborech: hydrobiologii a hydrobakteriologii, virologii a lékařské mikrobiologii, hy-

gieně, farmacii [1, 2, 3], jakož i v četných odvětvích potravinářské mikrobiologie.

V pivovarství nalezla metoda MF uplatnění při stanovení technologicky škodlivých sarcin a mléčných bakterií, a to v pivu i pivovarských kvasnicích. *Weinfurter* [4, 5], *Klos a Reimann* [6], *Raible* [7] popsali metodiku práce a složení živných půd pro stanovení kvasinek, plísní, bakterií (a tzv. škůdců piva), vhodných pro metodu MF v pivovarské mikrobiologii. Z našich autorů použili MF (UFS) při kontrole provozu i výrobků *Bendová* [8], *Herlíková* [9], *Lhotský a Mergl* [10]. Dosažené výsledky, kriticky porovnané s metodami klasickými, plně potvrzují zavedení metody UFS do pivovarské mikrobiologické praxe.

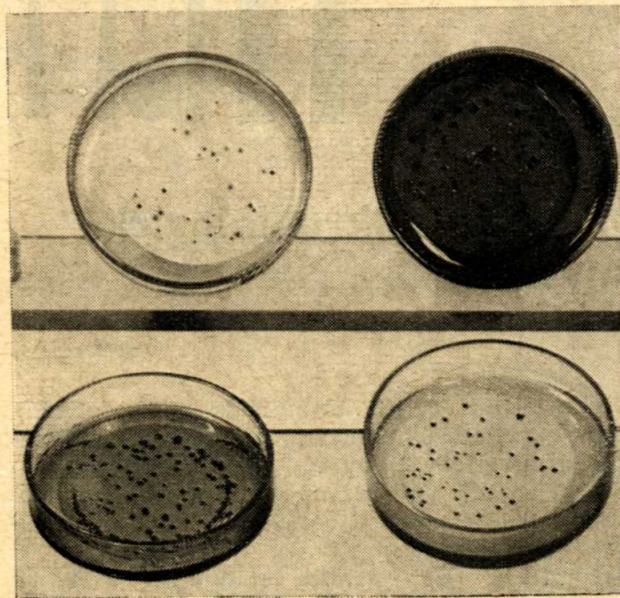


Obr. 1. Schematické znázornění filtrace (šipka znázorňuje směr filtrace)

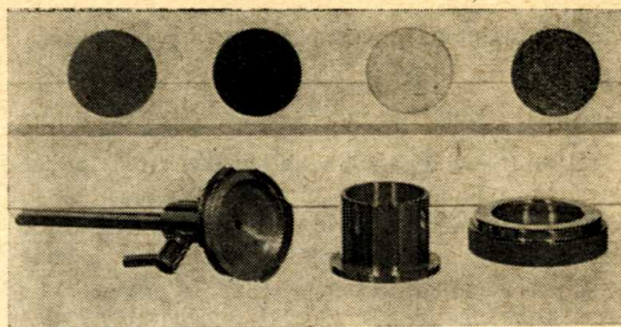
V nápojovém průmyslu je metoda MF použitelná v téměř rozsahu jako při vyšetření vody. Souborně se metodou MF (při vyšetřování minerálních vod, limonád a ovocných šťáv) zabýval *Damm* [11]. Z našich autorů stanovili koliformní mikrofloru v minerálních vodách touto metodou *Mašinová a Šácha* [12]; zjišťování psychrofilní a mesofilní mikroflory, kvasinek a plísní a koliformních mikroorganismů v limonádách a sodovkách metodou UFS provedli *Mergl a Nováková* [13].

Použití MF (UFS) nalezlo široké uplatnění i v cukrovarnictví, v mlékařské mikrobiologii a v ostatních odvětvích potravinářského průmyslu.

Metody MF bylo rovněž úspěšně využito při kontrole dezinfekčních látek a účinnosti čištění (mytí) a dezinfekci v četných odvětvích potravinářského



Obr. 2. Kolonie mikroorganismů po kultivaci na UFS



Obr. 3. Filtrační aparatura „Prema 50“

nahoře (od leva): kovová, karbidová (SiC), skleněná, kovová (antikorozivní podložka; dole (od leva): jednotlivé díly filtrační aparatury (nálevka, válec, objímka)

průmyslu [5]. Metodou lze spolehlivě stanovit mikrobiální čistotu lahví, konví, nástrojů a zařízení a potrubí [13, 14].

Charakteristika a vlastnosti UFS

Ultrafiltry mají houbovitou strukturu, tvořící mikroporézní trojrozměrný systém (připravený z kolidních roztoků nitrocelulózy gelfikací a sušením). Strukturu UFS tvoří tedy vícevrstevný systém dutých komůrek vysoké poréznosti. Vysoce porézní systém a homogenní struktura umožňuje velice účinné zachycování i těch nejmenších částic hmoty (resp. mikroorganismů), rozptýlených jak v kapalinách, tak i v plynech. Detailní popis vlastností UFS je obsažen v příslušných monografiích [1, 2].

Typy UFS, vyráběné ve VCHZ - Uhřetěves:

Označení	Střední velikost pórů	Minimální velikost pórů	Maximální velikost pórů
PUFS		2,0	5,0
RUFS	1,1	1,0	1,2
AUFS	0,85	0,8	0,9
HUFS	0,4	0,3	0,5
VUFS	0,25	0,1	0,3

Poznámka: rozměry pórů jsou uváděny v mikronech

Použití určitého typu UFS se volí podle jeho zachytivosti vzhledem ke sledovaným mikroorganismům; např. VUFS se používá při studii virologických, HUFS při stanovení počtu mikrobů, koliformní mikroflory a enterokoků, AUFS při zjišťování kvasinek a plísní.

Filtrační aparatury

Používá se většinou aparatur kovových (výjimečně skleněných). Nejvhodnější kovové aparatury jsou „Prema 50“ (výrobce Prema, n. p., Brno) a německé, např. „Coli 5“ (výrobce Membranfilter-gess. — Göttingen). Rovněž lze po menší úpravě použít „Laboratorního filtru“ (výrobce Labora, n. p.). Uvedené aparatury jsou na obr. 3, 4 a 5.

Živné půdy

Pro metodu UFS se používá kultivační živné půdy podle běžných předpisů; pro zdárný rozvoj mikrobiálních kolonií (dokonalá difuze živin) se však připravují s obsahem agaru 1 % (max. 1,5 %).

Pomocná zařízení (nutná pro filtrační metodu):

vývěva (vodní, olejová), odsávací baňka, pinzety, Petriho misky (nejlépe rozměrů korespondujících s průměrem použitého UFS) a další v mikrobiologické laboratoři běžně používané sklo a sterilní fyziologické roztoky.

Sterilace UFS

UFS se před sterilací krátce povaří (odstraní se zbylé látky, které mohou mikroorganismy inhibovat); pak se sterilují, a to: varem, v proudící páře, autoklávováním, nebo chemicky (nipagin, formalin, etylénoxid [1, 2, 14]).

Sterilace filtračních aparatur

Kovové aparatury se sterilují: autoklávováním, horkovzdušně, vypálením přímým plamenem. Lze použít rovněž chemické sterilace.

Pracovní metodika při použití UFS

a) Zvolí se vzhledem k vyšetřovanému vzorku a sledované mikrofloře UFS s odpovídající velikostí pórů danému účelu;

b) zkontroluje se, zda není UFS mechanicky poškozen;

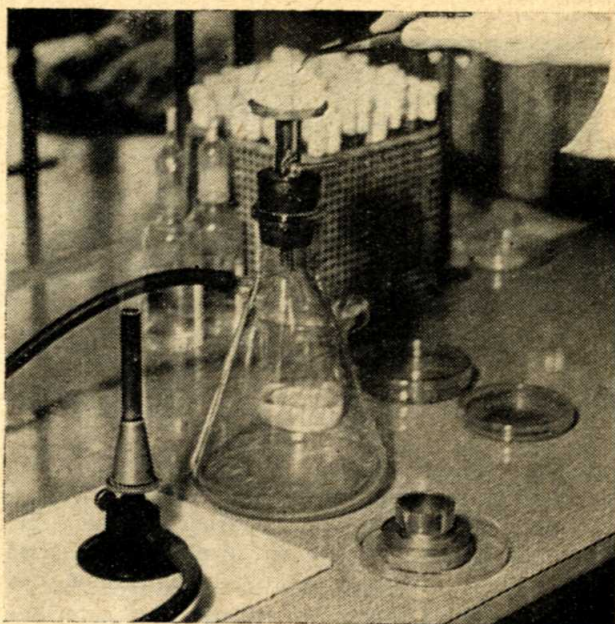
c) před filtrací UFS se vyvaří a vysteryluje;

d) filtruje se ve vhodné aparatuře;

e) následuje: přímé mikroskopické vyšetření nebo kultivace (po jejím ukončení pak vyhodnocení [1, 2, 8, 14]).

Filtrace:

na podložku filtračního aparátu se přiloží UFS (obr. 6), pak se přiloží filtrační válec a upevní se. Na UFS se nalije vyšetřovaný vzorek (nejlépe ve

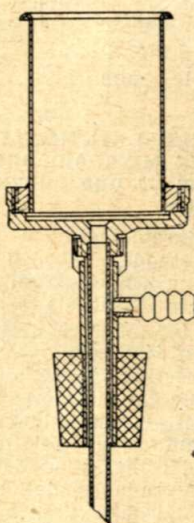
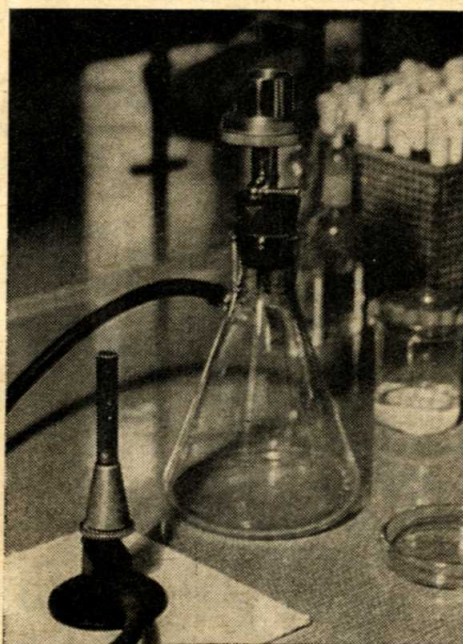


Obr. 6. Vkládání UFS na podložku filtrační aparatury

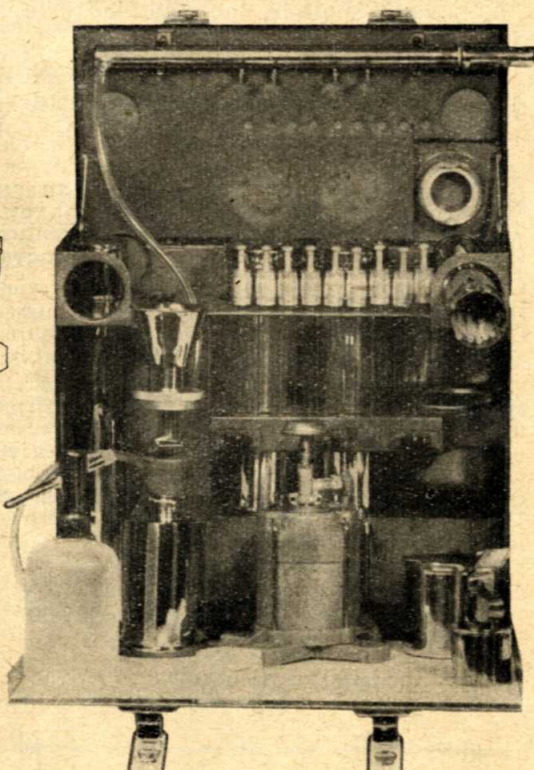
fyziologickém roztoku) a za pomoci vakua se odfiltruje. Po odsátí vzorku se UFS promyje (asi 30 až 50 ml fyziologického roztoku). Dokonale odsátý UFS se přiloží na živnou půdu v Petriho misce a tato se dnem nahoru (převrácená) vloží do inkubátoru. Půdy, teploty a doby inkubace se volí podle sledovaných mikroorganismů. UFS po inkubaci a vyhodnocení lze po vysušení (ev. konzervaci) uchovat ve formě „bakteriogramu“.

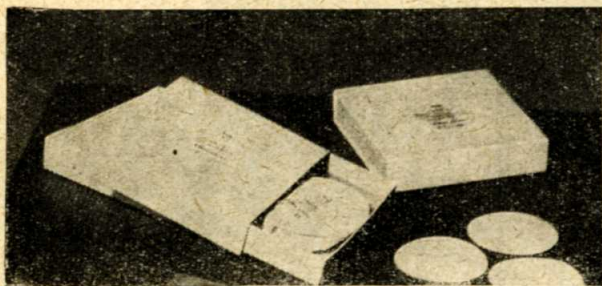
Obr. 7. Polní laboratoř (Feldlabor — výrobce Membranfilter G. m. b. H. — Göttingen)

Obr. 4. Filtrační aparatura „Coli 5“ (výrobce Membranfilter G. m. b. H. — Göttingen)



Obr. 5.
Laboratorní filtr
čs. výroby





Obr. 8. Expediční balení UFS, jednotlivé UFS

Výhody, plynoucí ze zavedení UFS do mikrobiologické praxe [3]

1. Možnost koncentrace malého počtu mikroorganismů z poměrně velkých množství kapalin. Při použití jiných metod byl důkaz mikroorganismů v materiálu, ve kterém se tyto nacházely jen v malém počtu, velmi obtížný — někdy dokonce nemožný.

2. Téměř úplná zachytlost filtrovaného materiálu. Vhodnou volbou filtrů s přesně určenou velikostí pórů můžeme buď rozdělit určité bakteriální skupiny podle rozměrů buněk, anebo oddělit od prostředí, ve kterém se nacházejí (sterilizace roztoků).

3. Jednoduchost pracovní metodiky.

4. Rychlé a přesné výsledky (jak přímým mikroskopováním, tak i kultivačně). Tato okolnost je obzvláště důležitá při provozní kontrole v potravinářském průmyslu.

5. Lehká přenosnost a umožnění práce přímo v terénu (obr. 7). Lze tedy vyšetřit vzorky v místě odběru (anebo je tam zpracovat a umístit UFS na plotny), a to zaručuje přesné a transportem neovlivněné výsledky.

6. Snížená spotřeba laboratorního skla a materiálů.

7. Vyloučení faktorů bakteriostatických a baktericidních. UFS — vzhledem ke své specifické struktuře, vylučující vzájemné ovlivňování vedle sebe

rostoucích kolonií produkty jejich metabolismu nebo jinými látkami.

8. Snížená možnost sekundární kontaminace materiálu.

9. Možnost použít UFS k trvalé dokumentaci.

10. UFS vysoké kvality jsou již vyráběny v ČSSR (obr. 8), čím odpadají devizové náklady.

11. Byly vyrobeny vhodné filtrační aparatury (Prema, n. p., Brno), které budou v roce 1965 dodány na trh.

Závěr

Metoda UFS je dalším vhodným doplňkem pro kontrolu potravinářských provozů a výrobků; najde jistě široké uplatnění jak v mikrobiologických laboratořích potravinářského výzkumu, tak i v laboratořích provozních.

Literatura

- [1] Membranfiltergesellschaft, Göttingen (firemní literatura) (1955—1963).
- [2] Millipore Co., Bedford, USA (firemní literatura) (1958—1962).
- [3] DNT — UFS — Pardubice (1962). sborník přednášek.
- [4] Weinfurter, F., Uhl, A., Wullinger, F.: Schnellmethode zum Nachweis von bierversäuernden Bakterien in Hefe und Bier unter Anwendung von Bakterienmembranfiltern. = „Brauwelt“, 96, 1961: 1393.
- [5] Weinfurter F.: Richtlinien für Hefereizucht, biologische Brauereibetriebskontrolle, Desinfektionsmittelpflege. Verlag H. Carl, Nürnberg (1957).
- [6] Klos, H., Reimann, R.: Die Anwendung der Membranfiltermethode in der praktischen biologischen Betriebskontrolle. = „Brauwissenschaft“, 10, 1954: 10.
- [7] Raible, K.: Über die Anwendung der Membranfilter in dem biologischen Brauerei-Laboratorium. = „Brauwissenschaft“, 7, 1951: 105.
- [8] Bendová, O.: Použití membránových filtrů v pivovarské biologické kontrole. = „Kvasný průmysl“, 2, 1958: 102.
- [9] Herlíková, G.: Použití membránových filtrů k biologické kontrole pivovarského průmyslu. Předneseno na DNT — UFS, Pardubice (1962).
- [10] Lhotský a Mergl: Dosud nepublikováno.
- [11] Damm, H.: Die Infektionen bei der Herstellung von Fruchtsaftgetränken bzw. Limonaden und ihre Vermeidung. = „Der Naturbrunnen“, 10, 1960: 275, 304.
- [12] Mašinová, L., Šácha, F.: Bakteriologická kontrola vod a některých jiných potravinářských výrobků membránovými filtry. = „Průmysl potravin“, 8, 1957: 36.
- [13] Mergl a Nováková: Kvasný průmysl (dosud nepublikováno).
- [14] Mergl, M.: Membránové filtry a jejich použití v potravinářské mikrobiologii, STI — MPP, Praha (1963).

Došlo do redakce 5. 11. 1964

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ
АНАЛИЗОВ В ПИЩЕВОЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ,
ОСНОВАННЫЕ НА ПРИМЕНЕ-
НИИ УЛЬТРАФИЛЬТРОВ
СИНТЕЗИЯ

Ультрафильтры типа СИНТЕЗИЯ, т. е. специальные мембранные фильтры дают возможность пользоваться при микробиологическом изучении новым методом, имеющим в многих случаях несомненные выгоды по сравнению с другими методами. Принцип метода основан на накоплении микроорганизмов, находящихся в зараженных жидкостях, на сравнительно малой площади фильтра. Новый метод найдет широкое применение в микробиологических лабораториях исследовательских институтов, а также в лабораториях заводов пищевой промышленности.

ULTRAFILTER SYNTHESIA (UFS) —
MODERNE MIKROBIOLOGISCHE
METHODE IN DER LEBENSMITTEL-
INDUSTRIE

Die mikrobiologischen Untersuchungsmethoden wurden mit der Einführung von Membranfiltern — Ultrafiltern Synthesia — um eine weitere, für mehrere Bestimmungen geeignete Methode bereichert. Im Prinzip besteht die Methode auf der Anhäufung der Mikroorganismen aus mikrobiell verunreinigten Flüssigkeiten auf einer relativ kleinen Filteroberfläche. Die Methode hat weite Anwendungsmöglichkeiten in den biologischen Forschungs- und Betriebslaboratorien der Lebensmittelindustrie.

SYNTHESIA ULTRA-FILTERS BRING
NEW METHODS INTO MICROBIOLOGIC
ANALYSES IN FOOD INDUSTRIES

The Synthesia ultra-filters, i. e. special diaphragm filters offer new technique which can be applied to advantage to many categories of microbiologic analyses. The method is based on concentrating microorganisms from contaminated liquids on the small area of filter surface. The method is suitable both for research laboratories and for food factories, where routine analyses are necessary at various manufacturing stages.

