

# Nový přístroj ke stanovení tepelné odolnosti mikroorganismů

Ing. JAN ŠAVEL, Ing. MARIE PROKOPOVÁ,  
Jihočeské pivovary, n. p., České Budějovice

576.8.095.15.536.49.08

## Úvod

V minulém sdělení [1] jsme popsali jednoduchý přístroj k stanovení tepelné odolnosti mikroorganismů. Mikroorganismy se rozmíchaly do roztaveného, ochlazeného agaru a suspenze se nasála do skleněných kapilár. Po ztuhnutí suspenze se zatavené kapiláry vkládaly do otvoru vyvrtaného v podélné ose hliníkového válce.

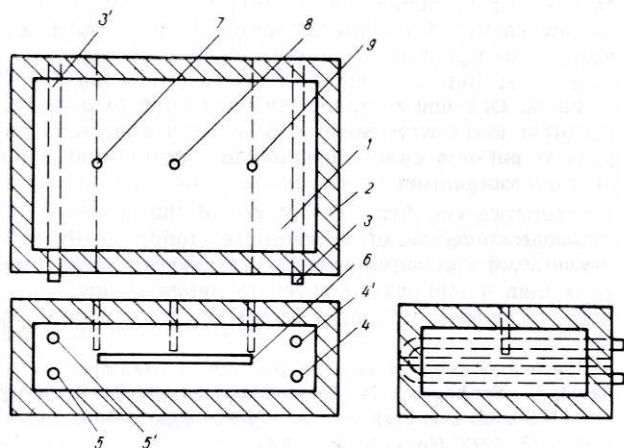
Konce válce se udržovaly na rozdílných teplotách, čímž se ve vzorku měnila teplota lineárně s délkou. Po zvolené expoziční době se kapiláry vyjmuly a mikroorganismy v agaru kultivovaly na plotnách živné půdy.

Přístroj umožňoval snadné stanovení letálních teplot mikroorganismů, mezi jeho nedostatky však patřila zdoluhavá příprava vzorků a obtížné odečítání kolonií přežívajících mikroorganismů v jednotlivých částech vzorku.

Tyto nedostatky se podařilo odstranit u přístroje popsaného v tomto článku.

## Popis přístroje

Přístroj (obr. 1) se skládá z kovového bloku 1, s otvorem obdélníkového průřezu 6 na pouzdro se vzorkem (obr. 2). Z výrobních důvodů byl blok sestaven ze dvou, k sobě přišroubovaných částí. Tepelné ztráty snižuje izolace 2.

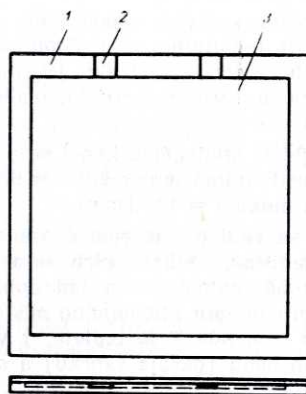


Obr. 1. Přístroj k stanovení tepelné odolnosti mikroorganismů (popis v textu)

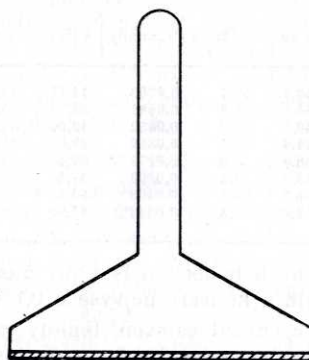
K vyhřívání bloku slouží kanálky pro teplou 3 a studenou 3' kapalinu, která vtéká vtokovými otvory 4, 5 a vytéká výtakovými otvory 4', 5'. Pro měření teploty jsou do bloku vyvrtány jímky na teploměry 7, 8, 9.

Oběh teplé a studené kapaliny (vody) zajišťují ultratermostaty s nuceným oběhem.

Pouzdro na vzorek (obr. 2) se skládá ze dvou částí. Ve spodní je vyfrézovaná komůrka 3 na vzorek, svrchní část tvoří krycí destička. K dokonalému utěsnění se může destička se spodní částí spojit v těsnicích plochách 1 šrouby. Vzorek se do pouzdra nalévá vtokovými otvory 2.



Obr. 2. Pouzdro na vzorek (popis v textu)



Obr. 3. Nůž na vyjímání vzorku z reakční komůrky

V naší laboratoři jsme pracovali s přístrojem těchto rozměrů:

	mm
blok	250 × 150 × 60
pouzdro	140 × 140 × 6
komůrka na vzorek	120 × 120 × 2
průměr kanálků	10
izolace	molitan

Přístroj a pouzdro byly z hliníku, oběh a ohřev vody zajišťovaly dva ultratermostaty U 10 (NDR).

Při stanovení tepelné odolnosti se mikroorganismy rozmíchají v roztaveném a ochlazeném 1,5 až 2% agaru. Suspenze se nalévá vtokovým otvorem do svisle postaveného pouzdra, aby vzorek dokonale vyplnil komůrku.

Po ztuhnutí agar se pouzdro se vzorkem vsune do kovového bloku, s konstatním teplotním spádem. Pro dokonalý styk pouzdra s blokem se pouzdro před vsunutím potře glycerinem. Glycerinem se rovněž vyplní jímky na teploměry.

Po expozici se pouzdro se vzorkem vyjme, ochladí a po sejmutí krycí destičky se agar s mikroorganismy přenese na plotnu živné půdy. Jedním z možných postupů



je obrácení komůrky dnem vzhůru a vyklopení agarové destičky speciálním nožem (obr. 3).

Při postupném ohřevu vzorku se pouzdro zasouvá do kovového bloku ručně nebo motorkem konstantní nebo proměnnou rychlostí. Vyčnívající část pouzdra se udržuje na nižší teplotě chlazením vzduchem nebo se pouzdro přesouvá do bloku s teplotním spádem z druhého, chladnějšího bloku.

### Vlastnosti přístroje

Po ustálení teplot v bloku s pouzdem se ověřovala linearita a stálost teplotního pole. Tabulka 1 uvádí teploty v měrných bodech přístroje, konstanty lineární závislosti teploty na vzdálenosti teploměrů a zpětně vypočtené teploty.

Teploměrů nejbližší studenému konci se přiřadila vzdálenost  $x = 0$ , prostřednímu teploměru  $x = 60$  a teploměru u teplého konce bloku  $x = 120$  (mm).

Rozsah teplot se volil pro měření úhynu vegetativních forem mikroorganismů, vyskytujících se v pivovarském provozu. Vypočtené hodnoty se velmi dobře shodovaly se změřenými; pro teplotu libovolného místa vzorku platil vztah  $T = ax + b$ , kde  $T$  je teplota,  $x$  vzdálenost od prvního měrného bodu (okraje vzorku) a  $a$ ,  $b$  příslušné konstanty (tab. 1).

Tabulka 1. Linearita teplotního pole přístroje

Měření	Změřená teplota (°C)			Konstantní teplotní závislosti		Vypočtená teplota (°C)		
	$x = 0$	$x = 60$	$x = 120$	$a$ (°C.mm <sup>-1</sup> )	$b$ (°C)	$x = 0$	$x = 60$	$x = 120$
1	44,2	48,4	52,7	0,0708	44,18	44,2	48,4	52,7
2	50,6	54,6	58,8	0,0683	50,57	50,6	54,7	58,8
3	43,8	48,9	54,0	0,0850	43,80	43,8	48,9	54,0
4	49,9	54,9	60,1	0,0850	49,87	49,9	55,0	60,1
5	57,5	58,4	59,6	0,0175	57,45	57,5	58,5	59,6
5	47,5	49,3	51,2	0,0308	47,48	47,5	49,3	51,2
7	54,5	56,8	59,3	0,0400	54,47	54,5	56,9	59,3
8	48,0	50,0	52,3	0,0358	47,95	48,0	50,1	52,2

Teploty v měrných bodech byly i při dlouhodobém měření (3 h) stále a kolísaly nejvýše o 0,1°C.

Pro zjištění rychlosti ustavení teploty vzorku se v komůrce zalily agarem termočlánky a po zasunutí pouzdra do bloku sledoval časový průběh teplot. Po 2 minutách po zasunutí pouzdra dosáhla teplota agaru 98 % hodnoty teploty odpovídajícího místa bloku. Po 4 minutách se teploty bloku i vzorku v odpovídajících místech shodovaly.

Při všech měřeních se pouzdro před zasunutím potřelo glycerinem. Při zasouvání suchého pouzdra do suchého bloku se teploty vyrovnávaly pomaleji.

Pro posouzení vysychání agaru a kondenzace vody se pouzdro se vzorkem [agarem] zahřívalo v bloku při max. teplotě 80°C a různých teplotních gradientech ( $a = 0,01 - 0,2$ °C mm<sup>-1</sup>). Po 1 h zahřívání a vyjmutí vzorku se nezjistilo vysychání ani nadměrná kondenzace v žádné části vzorku.

### Literatura

[1] ŠAVEL, J., PROKOPOVÁ, M.: Kvasný průmysl 22, 1976, č. 2, s. 25—28

Šavel, J. - Prokopová, M.: Nový přístroj k stanovení tepelné odolnosti mikroorganismů. Kvas. prům., 23, 1977, č. 6, s. 127—128.

Článek popisuje přístroj k stanovení tepelné odolnosti mikroorganismů. Do kovového bloku, jehož konce se udržují na různých teplotách, se zasune kovové pouzdro tvaru ploché destičky. Uvnitř pouzdra jsou v agaru rozptýlené mikroorganismy. Po expozici, při níž získají různá

místa vzorku různou teplotu, se agarová destička přenesne na živnou půdu a kultivuje.

Měřením se prokázaly výhodné vlastnosti přístroje: linearita teplotního pole, malé kolísání teplot (0,1°C/3 h), rychlé ustálování teplot ve vzorku (méně než 4 min) a odolnost proti vysychání vzorku a kondenzaci vody ze vzorku.

Шавел, Я. — Прокопова, М.: Новый прибор для определения устойчивости микроорганизмов к повышенной температуре. Квас. прум. 23, 1977, № 6, стр. 127—128.

В статье описана конструкция нового прибора предназначенного для определения устойчивости микроорганизмов к воздействию повышенных температур. Основной частью прибора является металлический корпус с полостью, имеющей сечение плоского прямоугольника. В эту полость вкладывают металлическую гильзу плоской формы, отвечающей сечению полости. Гильза наполнена агаром, заключающим рассеянные микроорганизмы. Концы корпуса нагреваются, причем температура одного конца выше чем другого. После нагрева агар с микроорганизмами помещается в питательную среду, где обнаружится жизнеспособность колоний подвергнутых влиянию разных температур.

Опыт подтвердил выдающиеся свойства прибора, т. е. линейность температурного поля, незначительное колебание температур (0,1°C/3 часа), быстрое установление температур, требующее менее 4 минут, устранение опасности высыхания образца и конденсации влаги.

Šavel, J. - Prokopová, M.: New Instrument for the Determination of Resistance of Microorganisms to Higher Temperatures. Kvas. prům. 23, 1977, No. 6, pp. 127—128.

The article deals with a new instrument which has been developed for the determination of resistance of microorganisms to higher temperatures. The principal part of the instrument is a metal block with a deep, narrow cavity of rectangular cross section. Microorganisms to be tested are dispersed in agar medium inclosed in a metal flat case which is inserted into the cavity of block. One end of the block is heated to a higher the other to a lower temperature. After heating the agar plate is put into culture medium to find, in what parts of it microorganisms survived.

Experience confirms advantages of the described instrument: linearity of temperature field, negligible temperature fluctuation (0,1°C in 3 hours), short time (less than 4 minutes) required to obtain steady conditions, no danger of sample drying and no condensation of water.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Neuer Apparat zur Bestimmung der Wärmebeständigkeit der Mikroorganismen. Kvas. prům. 23, 1977, No. 6, S. 127—128.

Der Artikel beschreibt einen Apparat zur Bestimmung der Wärmebeständigkeit der Mikroorganismen. In einen Metallblock, dessen Enden auf verschiedenen Temperaturen gehalten werden, wird eine flache Metallbüchse eingeschoben. Die Büchse enthält in Agar verteilte Mikroorganismen. Nach der Exposition, bei der verschiedene Stellen der Probe auf unterschiedliche Temperaturen übergehen, wird die Agarplatte auf Nährboden übertragen und kultiviert.

Durch Messungen wurden die vorteilhaften Eigenschaften des Apparates bestätigt, und zwar die Linearität des Wärmefeldes, sehr beschränkte Temperaturschwankungen (0,1°C/3h), schnelle Stabilisierung der Temperaturen in der Probe (weniger als 4 Min.) und Beständigkeit der Probe gegen Austrocknung und Kondensation des Wassers in der Probe.