

Druhé praktikum s doc. Šimůnkem

Pasterace

Pasterace představuje zahřátí potravin/surovin na teplotu pod bodem varu, která má zničit hygienicky nežádoucí mikroorganismy (vegetativní buňky) a prodloužit údržnost.

V praktiku budeme pracovat se dvěma teplotami 52,7 °C (pasterační teplota pro pivo a víno) a 61,6 °C (pasterační teplota pro mléko). Získáme tedy tři řady misek – bez pasterace, pasterace 1 (nižší) a pasterace 2 (vyšší).

Postup

- Do 12 zkumavek napipetujte po 4,5 ml sterilního fyziologického roztoku (pipeta 10 ml visí, sterilní špička je na stole, budete potřebovat 11 zkumavek, jedna je rezerva)
- Dvě zkumavky označte „1“ a „2“. Do obou napipetujte po půl ml vašeho vzorku (pipeta 1 ml visí, sterilní špičky jsou v kádince, vyhazují se do sáčku v plastové nádobce na stole) a promíchejte
- Zkumavku 2 označte svým číslem/značkou, dejte do vodní lázně (52,7 °C) a stopněte si čas 30 minut
- Mezi tím odeberte ze zkumavky č. 1 1 ml do Petriho misky (nepasterované, 10^{-1}) a přepipetováním půl ml ze zkumavky připravte ještě dekadická ředění 10^{-2} , 10^{-3} a 10^{-4}
- Po jednom ml z každého ředění napipetujte do Petriho misky (nepasterované, 10^{-2} , nepasterované 10^{-3} a nepasterované 10^{-4})
- Zvládnete-li dost brzy, misky zalejte půdou ochlazenou na 45 °C
- Po 30 minutách odeberte zkumavku 2, dejte 1 ml na Petriho misku (pasterace 1, 10^{-1} a připravte pro tuto pasteraci ředění 10^{-2} , 10^{-3} a 10^{-4} , napipetujte po 1 ml na další Petriho misky (viz o 2 body výše)
- Jakmile se vyhřeje lázeň na teplotu 61,6 °C, dejte do ní zkumavku 1 a stopujte čas 30 minut, v mezičase zalijte půdou misky od Pasterace 1, půdou zchlazenou pod 50 °C
- Po 30 minutách zkumavku vyjměte a zpracujte úplně stejným postupem jako zkumavku 2, jen označte misky jako Pasterace 2 a příslušným ředěním. Nakonec opět zalejte Petriho misky, zde nemusí být ochlazení tak přísné, protože pasterační teplota 61,6 °C je už na hranici „pálení“

Odečtení

Nejlépe dle domluvy po cca dvou až třech dnech. Najdeme misky s „počítatelným“ množstvím kolonií. Spočteme kolonie a vypočítáme průměr misek a zaokrouhlíme nahoru jako u obalů.

U zkumavky č. 1 odpovídá miska 0,1 ml původní šťávy (či jiné kapaliny) ze vzorku, zkumavka č. 2 0,01 ml atd., z toho vypočteme koncentraci v původní kapalině z počtu kolonií na miskách s počítatelným množstvím.

Je třeba dávat pozor, že ve vzorku mohou být kolonie i dvou tří druhů (různých velikostí), abychom na miskách s vyšším počtem KTJ nepřehlédli ty nejmenší kolonie. Může se také stát, že některé z druhů bakterií přežijí pasteraci lépe než jiné, tj. že se poměr mezi koloniemi různých druhů pasterací změní (není třeba počítat exaktně, ale pokud takový jev budete pozorovat, zapište to do protokolu).

Protokol

Do protokolu napište typ potraviny a výsledky.

Možné výsledky

V závislosti na druhu potraviny tj. i druhu mikroflóry v ní obsažené, by mělo dojít po první nebo druhé pasteraci k redukci koncentrace KTJ. Případně k redukci či vymizení kolonií určitého druhu (oproti vzorku, který žádnou z pasterací neprošel). Může dojít i k úbytku po obou pasteracích, to se v praxi (minulé roky) stává méně často.

Konkrétní výsledky jsou velice závislé na druhu potraviny a dokonce (při stejném druhu) na výrobci a způsobu skladování.

Několikrát za léta, co toto cvičení provádíme, se nám podařilo najít výrobky, v nichž deklarovaná mikroflóra nebyla, ale byly prakticky sterilní. I to je, pochopitelně, nutno brát jako závadu výrobku. Takový výsledek by v případě specifické mikroflóry nicméně měl být ověřen na dalších půdách, aby byl vyloučen falešně negativní výsledek, daný mikroflórou s příliš velkými nároky.

Nárůst počtu KTJ po pasteraci je způsoben jednoznačně nějakou chybou – od nedodržení sterility při práci až po chyby v odpočtu (přehlédnutí malých kolonií na miskách s vyšší koncentrací bakterií).

Pracujeme s vysokou mírou nejistoty, proto jsou čtyři ředění potřebným minimem. Občas se nám stává, že i ve 4. ředění je nepočítatelně vysoký počet kolonií na misce.

V praxi je kontrola přirozené mikroflóry v potravinách metodicky upřesňována podle dalších informací o příslušném druhu potraviny (protože lze najít očekávatelné počty KTJ na gram či mililitr výrobku alespoň u některých výrobců). A zavedené laboratoře, pochopitelně, používají i předchozí zkušenosti s výrobky stejného či podobného druhu.