

Dr hab. Wanda KAWECKA, prof. SGGW  
Mgr inż. Anna WRÓŃSKA  
Mgr inż. Beata TARKOWSKA  
Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji  
Katedra Żywności Funkcjonalnej i Towaroznawstwa  
SGGW w Warszawie

## OCENA MIKROFLORY W POWIETRZU CHŁODZIAREK W GOSPODARSTWACH DOMOWYCH®

Przechowywana w warunkach chłodniczych żywność stanowi dobrą pożywkę dla rozwoju mikroorganizmów. Celem przeprowadzonych badań była ocena stopnia zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza w urządzeniach chłodniczych w gospodarstwach domowych. W prowadzonych badaniach wykazano obecność zarodników bakterii saprofitycznych oraz chorobotwórczych szczepów *Listeria monocytogenes* oraz grzybów potencjalnie toksynotwórczych z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium*.

**Słowa kluczowe:** zanieczyszczenia mikrobiologiczne żywności, chłodzenie, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus sp*<sup>1</sup>., grzyby strzępkowe.

### WSTĘP

Chłodzenie jest jedną z najstarszych metod zapobiegających psuciu się żywności i przedłużających jej trwałość. Mimo stale polepszającego się stanu sanitarnego chłodzenia i przechowywania chłodniczego produktów żywnościowych, często dochodzi do ich skażenia niebezpiecznymi mikroorganizmami. Szczególnie duże zagrożenie dla zdrowia konsumentów niosą produkty, które po odpowiednio długim czasie przechowywania, spożywane są bez uprzedniej obróbki termicznej. *Listeria monocytogenes* zwana także „bakterią lodówkową”, zaliczana jest do najbardziej znanych i zarazem niebezpiecznych bakterii obecnych w żywności przechowywanej w warunkach chłodniczych. Choroby wywoływane przez tę bakterię są niebezpieczne głównie dla kobiet w ciąży, noworodków i dla osób z obniżoną odpornością. Za adaptację komórek drobnoustrojów do niskich temperatur odpowiadają określone mechanizmy regulacji środowiska wewnątrzkomórkowego, metabolizmu, stabilności strukturalnych i funkcjonalnych składników błony i ściany komórkowej, stabilności konfirmacyjnej białek i aktywności enzymów [2].

Według Hilbert i wsp. [3], jeśli komórki bakteryjne zostaną wystawione na działanie niskich temperatur, dochodzi do zmian w budowie ich błony komórkowej i wstrzymany zostaje wzrost komórek. Podczas trwania tej fazy, zwanej „aklimatyzacją do zimna”, drobnoustroje reagują zmianami w syntezie białek. Przy obniżonym tempie syntezy większości białek w cytoplazmie, w błonach komórkowych obserwowano nasilenie tworzenia nowych, tzw. protein cold shock oraz zmiany w konfiguracji warstwy lipidowej wywołane powstaniem rozgałęzionych nienasyconych kwasów tłuszczowych o niższych punktach topnienia niż ich odpowiedniki w formie nasyconej [11]. Takie mechanizmy kompensacyjne zaczynają działać już w kilka sekund po obniżeniu temperatury, sprzyjając zachowaniu elastyczności błony komórkowej bakterii niezbędnej do utrzymania życia w zmienionych warunkach

otoczenia. Wysoka wilgotność powietrza sprzyja rozmnażaniu drobnoustrojów w niskiej temperaturze natomiast środowisko suche działa ochronnie. Bakterie i drożdże jako przedstawiciele grupy hydrofilii potrzebują do rozwoju dużej wilgotności względnej powietrza, natomiast grzyby strzępkowe są tzw. kserofilami zdolnymi do rozwoju przy znacznie niższej wilgotności względnej (niektóre nawet przy wynoszącej 70%), [10]. Optimum aktywności drobnoustrojów tlenowych przypada na normalne warunki atmosferyczne tj. pO<sub>2</sub> ok. 0,21 bar. Przy wartościach niższych lub wyższych obserwuje się obniżenie aktywności wzrostu bakterii tlenowych.

W produktach spożywczych przechowywanych w niskich temperaturach, często dochodzi do rozwoju patogennych psychrotrofów takich jak: *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum* typ E, *Escherichia coli* i *Bacillus cereus* [14,16].

***Listeria monocytogenes* wywołuje groźną dla człowieka chorobę – listeriozę** występującą w dwóch formach: inwazyjnej i nieinwazyjnej. Postać inwazyjna cechuje się wysoką śmiertelnością i dotyczy osób wysokiego ryzyka. **W przebiegu klinicznym schorzenia, mogą wystąpić objawy zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych lub posocznicy. U kobiet ciężarnych zakażonych *Listeria monocytogenes* w 15-25% przypadków dochodzi do poronień**, a u ok. 5% występują objawy grypopodobne [8]. Postać nieinwazyjna listeriozy, stwierdzana u dzieci jak i u osób dorosłych, cechuje się zwykle okresowymi zaburzeniami żołądkowymi i objawami grypopodobnymi, które nie mają następstw śmiertelnych [7].

*Bacillus cereus* to Gram dodatnie, przetrwalnikujące laseczki, szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, rosnące w szerokim zakresie temperatur od 4 do 50°C, w środowisku o pH (4,9-9,3) i przy zawartości NaCl do 7% [12]. *Bacillus cereus* produkuje dwie toksyny, jedną powstającą w żywności, powodującą biegunkę i wymioty, zwykle w 4 godziny po spożyciu produktu oraz drugą, która może być wytwarzana zarówno poza organizmem jak i w jelitach. Dawka infekcyjna wynosi 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> j.t.k./g [4]. Według raportu WHO z 1990 r. 5-10% ewidencjonowanych zatruc pokarmowych w Europie jest spowodowanych toksynami wytworzonymi przez *Bacillus cereus* [15].

<sup>1</sup> sp. – species (gatunek) – podstawowe jednostki klasyfikacji taksonomicznej.

**Celem artykułu jest próba uświadomienia, jak dalece ludzkie zdrowie i jakość życia zależy między innymi od czystości i sterylności domowych urządzeń chłodniczych, w których przechowujemy żywność.**

## CEL I ZAKRES PRACY

Celem przeprowadzonej pracy badawczej było określenie ogólnej liczby drobnoustrojów w powietrzu chłodziarek wybranych gospodarstw domowych oraz ocena obecności *Listeria monocytogenes* i *Bacillus sp.* oraz grzybów strzępkowych.

Zakres pracy zmierzający do realizacji celu obejmował:

- przygotowanie pożywek do hodowli bakterii i grzybów,
- pobranie próbek powietrza na podłoża hodowlane,
- inkubację badanego materiału na podłożach hodowlanych w temperaturze 37 ° C(48h) i 25 ° C (do 7 dni),
- ocenę ilościową i jakościową wyhodowanych kolonii bakterii i grzybów.

## MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał do badań stanowiły: próbki powietrza z 25 chłodziarek wybranych gospodarstw domowych.

Do pomiaru ilości mikroorganizmów w powietrzu wykorzystano metodę zderzeniową. W tym celu użyto próbnika powietrza AIR IDEAL firmy Biomerieux. Natężenie przepływu powietrza wynosiło 100 l/min (zgodnie z Normą ISO), natomiast prędkość uderzenia cząsteczek o powierzchnię płytki wynosiła 20m/s. Cząsteczki powietrza z zarodnikami mikroorganizmów zasysane dzięki wbudowanej turbinie aparatu, przechodziły przez perforowaną przegrodę i osadzały się na powierzchni podłoża w płytce Petriego.

Do badań użyto przygotowanych uprzednio podłoży hodowlanych: Sabouraud Dextrose LabAgar z chloramfenikolem, Standard Methods Agar (PCA), Mac Conkey Lab Agar, Columbia Agar z 5% dodatkiem krwi baraniej, Aloa wg. Ottaviani Agosti, Bacillus Agar, SS Agar firmy BioCORP.

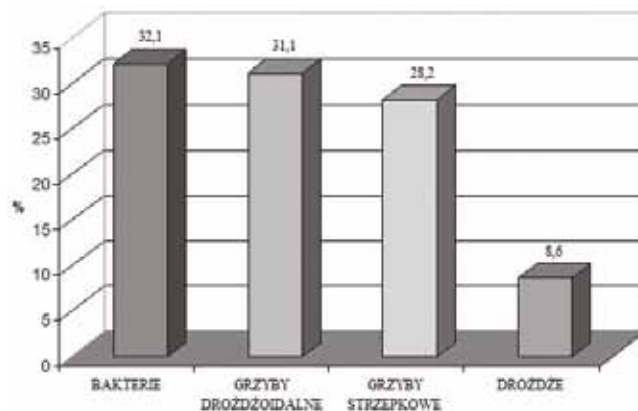
Próbki powietrza pobierano kolejno z 25 z urządzeń chłodniczych w ilości 30 l i 60 l. Płytki z podłożem i materiałem badawczym umieszczano na 24h do 48h w cieplarni w temperaturze 37°C, oraz w temperaturze pokojowej do 7 dni. Wyrosłe kolonie przesiewano na podłoża różnicujące dla określenia stopnia rozkładu zawartych w nich związków chemicznych oraz sporządzano preparaty mikroskopowe barwione metodą Grama.

## WYNIKI BADAŃ

Jak dotąd brak jest danych literaturowych na temat zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza urządzeń chłodniczych w gospodarstwach domowych. W Polsce brak

jest również norm dotyczących oceny mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza urządzeń chłodniczych. Według Rywotyckiego [13], pomieszczenia magazynowo-chłodnicze należy uznać za słabej jakości, jeżeli ogólna liczba drożdży i grzybów strzępkowych wynosi powyżej 700 jtk/m<sup>3</sup> – maksimum 1250 jtk/m<sup>3</sup>. W dużych chłodniach należących do zakładów produkcyjnych przyjęto wymagania norm jakości mikrobiologicznej powietrza dobrej jakości, gdy górny poziom bakterii, drożdży i grzybów strzępkowych nie przekracza wartości 3x10<sup>2</sup>, jtk/m<sup>3</sup>. Obserwowane w badaniach własnych średnie zanieczyszczenie powietrza pobranego z 25 chłodziarko-zamrażarek w gospodarstwach domowych było znacznie wyższe (9,7 x 10<sup>2</sup> jtk/m<sup>3</sup>). Najwięcej kolonii drobnoustrojów wyhodowano z próbek powietrza tradycyjnej chłodziarko-zamrażarki sprężarkowej o pojemności 109 litrów (12,3 x 10<sup>3</sup> jtk/m<sup>3</sup>). Wypełnionej wieloma produktami spożywczymi, w tym różnymi rodzajami serów twardych i innych produktów nabiałowych. Wzrost nielicznych kolonii bakterii i grzybów stwierdzono w hodowli próbek powietrza pobranych z chłodziarko-zamrażarki typu no frost o pojemności 136 litrów (0,22 x 10<sup>2</sup> jtk/m<sup>3</sup>) posiadającej specjalny mechanizm osuszający i zapobiegający osadzaniu się szronu (tabela 1).

Obecność zarodników drobnoustrojów w powietrzu ma bezpośredni wpływ na trwałość i długość okresu przydatności do spożycia produktów spożywczych. Z pobranych próbek powietrza z chłodziarek w gospodarstwach domowych wyhodowano najwięcej kolonii bakterii i grzybów drożdżoidalnych (rys. 1).



**Rys. 1.** Procentowy udział poszczególnych grup drobnoustrojów wyhodowanych z próbek powietrza badanych chłodziarek.

**Źródło:** Badania własne.

Liczba wyhodowanych kolonii bakterii z powietrza chłodziarek wahała się w granicach od 0,9x10<sup>2</sup> jtk/m<sup>3</sup> do 1,7x10<sup>2</sup> jtk/m<sup>3</sup>. W składzie mikroflory z wszystkich badanych próbek

**Tabela 1.** Zanieczyszczenia mikrobiologiczne powietrza pobranego z chłodziarek w gospodarstwach domowych

Ogólna liczba drobnoustrojów jtk/m <sup>3</sup>					
Wartość minimalna	Wartość maksymalna	Średnia arytmetyczna	Mediana	Odchylenie standardowe	Poziom istotności
0,22 x 10 <sup>2</sup>	12,3 x 10 <sup>3</sup>	9, 7 x 10 <sup>2</sup>	1,18 x 10 <sup>3</sup>	2,72x10 <sup>2</sup>	>0,05

**Źródło:** Badania własne.

**Tabela 2.** Ocena jakościowa i ilościowa bakterii wyhodowanych z chłodziarek gospodarstw domowych

Rodzaj wyhodowanych bakterii	jtk/m <sup>3</sup>				
	Wartość minimalna	Wartość maksymalna	Średnia arytmetyczna	Mediana	Odchylenie standardowe
<i>Micrococcus sp.</i>	0,3 x 10 <sup>2</sup>	1,2 x 10 <sup>2</sup>	0,5 x 10 <sup>2</sup>	0,9 x 10 <sup>2</sup>	0,4 x 10 <sup>2</sup>
<i>Bacillus sp.</i>	0,1 x 10 <sup>2</sup>	0,7 x 10 <sup>2</sup>	0,3 x 10 <sup>2</sup>	0,5 x 10 <sup>2</sup>	0,3 x 10 <sup>2</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0,4 x 10 <sup>2</sup>	0,2 x 10 <sup>2</sup>	0,3 x 10 <sup>2</sup>	0,2 x 10 <sup>2</sup>
<i>Corynebacterium sp.</i>	0	0,2 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>
<i>Neisseria sp.</i>	0	0,1 x 10 <sup>2</sup>	-	-	-
<i>Sarcina sp.</i>	0	0,2 x 10 <sup>2</sup>	-	-	-
<i>Actinomyces sp.</i>	0	0,1 x 10 <sup>2</sup>	-	-	-

**Źródło:** Badania własne.

obserwowano wzrost ziarniaków z rodzaju *Micrococcus sp.* Bakterie z rodzaju *Bacillus sp.* wyhodowano z 70% badanych próbek powietrza w ilości od 0,2x10<sup>2</sup> jtk/m<sup>3</sup> do 0,4x10<sup>2</sup> jtk/m<sup>3</sup>. Kolonie *Listeria monocytogenes* były obecne w hodowli z 20% badanych próbek powietrza ( tabela 2).

**Według Rozporządzenia** Komisji Europejskiej w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, które obowiązują od stycznia 2006, *Listeria monocytogenes* powinna być nieobecna bezpośrednio po produkcji w 25g produktu, ale jest tolerowana w liczbie poniżej 100jtk/g w produktach wprowadzonych do obrotu [5]. Loncarevic i wsp. [6], izolowali pałeczki *Listerii monocytogenes* z 42% przebadanych próbek serów miękkich wyprodukowanych z mleka surowego. Według Beumer i Kusumaningrum [1], jednym z powodów wystąpienia objawów chorobowych u konsumentów po spożyciu produktów spożywczych jest zbyt długie przechowanie resztek żywności w warunkach gospodarstw domowych. Sery i inne produkty przechowywane w chłodziarko-zamrażarkach nawet do kilku dni, były często konsumowane bez uprzedniej obróbki termicznej [9].

Powodem niekorzystnych zmian organoleptycznych podczas przechowywania produktów spożywczych może być obecność grzybni rozwijającej się z zarodników grzybów występujących w powietrzu. W badaniach Rywotyckiego [13] średnia miesięczna liczba wyhodowanych grzybów z powietrza wewnątrz pomieszczeń chłodniczych wynosiła 4,36x10<sup>3</sup>jtk/m<sup>3</sup>. Zanieczyszczenie powietrza zarodnikami grzybami strzępkowymi w chłodziarkach badanych gospodarstw domowych było niższe i wahało się granicach od 0,2x10<sup>3</sup> jtk/m<sup>3</sup> do 2,8x10<sup>3</sup> jtk/m<sup>3</sup>. Wśród wyrosniętych kolonii w największej liczbie występowały grzyby z rodzajów *Penicillium* i *Aspergillus* zawierających najwięcej szczepów grzybów toksynotwórczych. Inne rodzaje kolonii grzybów mających wpływ na obniżenie jakości przechowywanej żywności, ale bez zagrożenia obecnością mikotoksyn obserwowano sporadycznie na podłożach hodowlanych (tabela 3).

## WNIOSKI

1. Ilość i rodzaj przechowywanych produktów miały wpływ na ocenę kolonii drobnoustrojów wyhodowanych z próbek powietrza pobranego z chłodziarek w gospodarstwach domowych.

**Tabela 3.** Ocena jakościowa i ilościowa zanieczyszczeń chłodziarek wywołanych przez grzyby strzępkowe

Rodzaj wyhodowanych grzybów	jtk/m <sup>3</sup>				
	Wartość minimalna	Wartość maksymalna	Średnia arytmetyczna	Mediana	Odchylenie standardowe
<i>Penicillium sp.</i>	0,1 x 10 <sup>2</sup>	1,7 x 10 <sup>3</sup>	0,9 x 10 <sup>3</sup>	0,7 x 10 <sup>3</sup>	0,6 x 10 <sup>3</sup>
<i>Aspergillus sp.</i>	0,2 x 10 <sup>2</sup>	0,5 x 10 <sup>3</sup>	0,6 x 10 <sup>2</sup>	0,4 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>3</sup>
<i>Verticillium sp.</i>	0	0,4 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>	0,2 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>
<i>Trichothecium sp.</i>	0	0,1 x 10 <sup>2</sup>			
<i>Cheatomium sp.</i>	0	0,4 x 10 <sup>1</sup>			
<i>Saccharomyces sp.</i>	0	0,2 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>
<i>Rhodotorula sp.</i>	0	0,6 x 10 <sup>1</sup>			
<i>Geotrichum sp.</i>	0	0,7 x 10 <sup>2</sup>	0,2 x 10 <sup>2</sup>	0,6 x 10 <sup>2</sup>	0,5 x 10 <sup>2</sup>
<i>Candida sp.</i>	0	0,4 x 10 <sup>2</sup>			
<i>Saccharomyces sp.</i>	0	0,6 x 10 <sup>1</sup>			

**Źródło:** Badania własne.

2. Z wszystkich badanych próbek powietrza pobranego z chłodziarek wyhodowano kolonie bakterii z rodzaju *Micrococcus* i grzyby z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium*.

3. Zarodniki chorobotwórczych bakterii *Listeria monocytogenes* były obecne w powietrzu 20% badanych chłodziarek.

4. Z 70% próbek powietrza chłodziarek domowych wyhodowano bakterie z rodzaju *Bacillus*.

## PODSUMOWANIE

1. Obecność zarodników patogennych bakterii *Listeria monocytogenes* i *Bacillus sp.* oraz grzybów strzępkowych potencjalnie toksynotwórczych w powietrzu urządzeń chłodniczych stanowi zagrożenie prowadzące do skażeń mikrobiologicznych produktów spożywczych.

2. Częste spożywanie produktów roślinnych i zwierzęcych nie poddawanych obróbce termicznej, przechowywanych w chłodziarkach domowych stwarza niebezpieczeństwo występowania chorób przewodu pokarmowego u konsumentów.

3. Mikotoksyny które mogą się pojawić w produktach spożywczych długo przechowywanych w warunkach chłodniczych wskutek rozwoju grzybnicy z zarodników grzybów rodzajów *Penicillium* i *Aspergillus* są zaliczane do groźnych związków nowotworczych.

4. W celu uniknięcia zagrożeń skażeń żywności poprzez zarodniki bakterii i grzybów strzępkowych zaleca się częste monitorowanie zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza urządzeń chłodniczych w gospodarstwach domowych i mycie tych urządzeń oraz przywrócenie zabranych uprawnień Stacjom Sanitarно-Epidemiologicznym w skali kraju w zakresie kontroli zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza urządzeń chłodniczych w sklepach „marketach” spożywczych i hurtowniach sprzedających żywność chłodzoną i mrożoną.

## LITERATURA

- [1] BEUMER R.R., KUSUMANINGRUM H. 2003. *Kitchen hygiene in daily life*. International Biodeterioration & Biodegradation, 51, 299-302.
- [2] DZIUGAN P. 2006. *Adaptacja niskotemperaturowa mikroorganizmów*. Chłódnictwo, 41, 11, 54-55.
- [3] HILBERT F., SMULDERS F.J.M. 2001. *Przechowywanie w temperaturach chłodniczych a rozwój drobnoustrojów chorobotwórczych*. Mięso i Wędliny, 8, 58-59.
- [4] KOTIRANTA A., LOUNATMAA K., HAAPASALO M. 2000. *Epidemiology and pathogenesis of Bacillus cereus infections*. Microbes and Infection, 2, 189-198.
- [5] KWIATEK K. 2006. *Wymagania mikrobiologiczne dla żywności w aspekcie zapewnienia jej bezpieczeństwa i ochrony zdrowia publicznego*. Higiena, 2/3, 7-11.
- [6] LONCAREVIC S., BANNERMAN E., BILLE J., DANIELSSON-THAM M.L., W. THAM. 1998. *Characterization of Listeria strains isolated from soft and semi-softcheeses*. Food Microbiol., 15, 521-525.
- [7] MCLAUCHLIN J. 1997. *The pathogenicity of Listeria monocytogenes: a public health perspective*. Rev. Med. Microbiology, 8, 1-14.

- [8] MCLAUCHLIN J., MITCHELL R.T., SMERDON W.J., JEWELL K. 2004. *Listeria monocytogenes and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of food*. Int. Journal of Food Microbiology, 92, 15-33.
- [9] MENG J., DOYLE M.P. 2002. *Microbiological food safety*. Microbes and Infection, 4, 395-397.
- [10] MÜLLER G. 1990. *Podstawy mikrobiologii żywności*. Wyd. Naukowo-Techniczne.
- [11] NEDWELL D.B. 1999. *Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substratum limits growth at low temperature*. FEMS Microbiol. Ecol., 30, 101-111.
- [12] REYES J.E., BASTIAS J.M., GUTIÉRREZ, RODRIGUEZ M.O. 2007. *Prevalence of Bacillus cereus in dried milk products used by Chilean School Feeding Program*. Food Microbiology, 24, 1-6.
- [13] RYWOTYCKI R. 2001. *Występowanie grzybów toksynotwórczych w powietrzu pomieszczeń chłodniczych*. Chłódnictwo, 36, 5, 40-41.
- [14] STEPHENS J.C., ROBERTS I.S., JONEM D., ANDREW P.W. 1991. *Effect of growth temperature on virulence of strains of Listeria monocytogenes in the mouse: evidence for a dose dependence*. J. Appl. Bacteriol., 70, 239-244.
- [15] ŚWIĘCICKA I., BUCZEK J., HAUSCHILD T. 1997. *Psychrofile i psychrotrofy*. Post. Mikrobiology., 36, 1, 53-64.
- [16] TROJANOWSKA K. 2006. *Mikroorganizmy niepożądane w żywności i skutki ich oddziaływania*. w: Gawęcki J., Libudysz Z.: *Mikroorganizmy w żywności i żywieniu*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Poznaniu, Poznań.

## ESTIMATE OF THE AIR MICROFLORA OF THE REFRIGERATORS FROM HOUSHOLD

### SUMMARY

Food presents good source in cooling conditions for development of microorganism stored. The aim of investigation there was the opinion of microbiological contamination of the air of refrigerators from household. Presence of presence exert in composition microflora pathogenic spores *Listeria monocytogenes*, *Bacillus sp.* and spores potential toxinogenic filamentous fungi of genres *Aspergillus* and *Penicillium*.

**Key words:** microbiological contamination, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus sp.*, filamentous fungi.