

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE**  
**FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

Evidenčné číslo

**MIKROBIOLÓGIA MINERÁLNYCH A LIEČIVÝCH VÔD NA**  
**SLOVENSKOM TRHU**

**2011**

**Bc. Emília Čalovková**

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE**  
**FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

**MIKROBIOLÓGIA MINERÁLNYCH A LIEČIVÝCH VÔD NA**  
**SLOVENSKOM TRHU**

**Diplomová práca**

Študijný program: biotechnológie

Názov biotechnológie

Študijný odbor: biotechnológie

Číslo a názov: 5.2.25

Školiace pracovisko: Fakulta biotechnológie a  
potravinárstva

Názov katedry: Katedra mikrobiológie

Školiteľ: doc. Ing. Miroslava Kačániová, PhD.

Konzultant: Ing. Vladimíra Kňazovická

**Nitra 2011**

**Bc. Emília Čalovková**

### **Čestné vyhlásenie**

Podpísaná Bc. Emília Čalovková týmto prehlasujem, že som diplomovú prácu na tému „**Mikrobiológia minerálnych a liečivých vôd na slovenskom trhu**“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak hore uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 15. apríla 2011

Bc. Emília Čalovková

## **Pod'akovanie**

Týmto by som chcela pod'akovať svojej školiteľke doc. Ing. Miroslave Kačániovej, PhD. a Ing. Vladimíre Kňazovickej za odborné a pedagogické vedenie, za cenné rady a za usmerňovanie pri vypracovávaní diplomovej práce.

## Abstrakt

Cieľom diplomovej práce bolo stanoviť mikrobiologickú kvalitu vo vzorkách minerálnych a liečivých vôd pochádzajúcich zo Slovenska. Stanovenie sa robilo kultiváciou pomocou klasickej platňovej metódy so zameraním na: celkový počet mikroorganizmov, počet koliformných mikroorganizmov, počet anaeróbných sporulujúcich mikroorganizmov a počet mikroskopických húb. Pre každý z týchto stanovení sa použil iný typ živnej pôdy, na ktorej sa kultivovalo 1 ml vzorky z vybraných minerálnych a liečivých vôd povrchovo alebo zaliatím. Po kultivácii sa spočítali kolónie mikroorganizmov a mikroskopické huby sa zaradili do rodov. Počet koliformných baktérií sme sledovali na VČŽL agare pri teplote 37 °C počas 24 až 48 hodín. Celkový počet mikroorganizmov sme stanovili kultiváciou na GTK agare zaliatím pri teplote 30 °C počas 48 až 72 hodín. Anaeróbne sporujúce baktérie sme sledovali na MPA agare po kultivácii pri teplote 25 °C počas 48 až 72 hodín. Mikroskopické huby sme sledovali na dvoch agaroch, a to SA agare a CD agare pri teplote 25 °C počas 5 až 7 dní. Pri mikrobiologickom stanovení vzoriek minerálnych a liečivých vôd sa nezistili žiadne koliformné baktérie, čo svedčí o čistote plnenia týchto vôd, a o neprítomnosti nežiadúcej fekálnej kontaminácie. Pri stanovení celkového počtu mikroorganizmov sa zistil najväčší počet mikroorganizmov prítomných v minerálnej vode Mitická. Naopak žiadne mikroorganizmy sa zistili u minerálnej vody Baldovská, Salvator, Čerínska, Slatina a u liečivej vody Korytnica. Najväčší počet anaeróbných sporulujúcich baktérií mala minerálna voda Budiš a Čerínska. Nulový počet anaeróbných sporulujúcich baktérií bol zistený vo vzorke minerálnej vody Mitická, Ľubovnianska, Slatina, Baldovská, Budiš a liečivej vody Fatra. Hoci je prítomnosť mikroskopických húb v minerálnych vodách zakázaná na základe požiadaviek v Potravinovom kódexe, mikroskopické huby boli zistené u minerálnych vôd Slatina, Mitická, Baldovská, Budiš, Kláštorňa, Ľubovnianska a Čerínska. Vo vzorkách minerálnych a liečivých vôd sa vyskytovali najčastejšie kolónie *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* a *Fusarium sp.* Na základe týchto výsledkov môžem konštatovať, že pri plnení minerálnych a liečivých vôd nedošlo ku fekálnej kontaminácii. Avšak minerálne vody Slatina, Mitická, Baldovská, Budiš, Kláštorňa, Ľubovnianska a Čerínska nespĺnili mikrobiologické požiadavky na kvalitu minerálnych vôd, pretože obsahovali mikroskopické huby.

**Kľúčové slová:** minerálne vody, liečivé vody, mikroorganizmy, klasifikácia

## **Abstract**

The aim of this thesis was to determine the microbiological quality of samples of mineral and curative waters originating from Slovakia. The determination is done by classical culture plate method to detect: the total number of microorganisms, the number of coliforms, the number of sporulated anaerobic microorganisms and the number of microscopic fungi. For each of these determinations was used another type of broth, which were cultured on 1 ml samples of selected mineral and medicinal water surface or embedding. After the cultures were counted colonies of microorganisms and microscopic fungi were included in the genera. The number of coliforms bacteria were followed for VČŽL agar at 37 °C for 24 to 48 hours. The total number of microorganisms was determined by culturing on agar embedding GTK at 30 °C for 48-72 hours. Sporulated anaerobic bacteria we followed the MPA agar after incubation at 25 °C for 48-72 hours. Microscopic fungi were followed for two agar, SA agar and CD agar at 25 °C for 5 to 7 days. In microbiological determination of samples of mineral and curative waters were no coliforms bacteria, indicating a clean implementation of these waters and undesirable absence of faecal contamination. In determining the total number of microorganisms found the greatest number of microorganisms present in mineral water Mitická. Contrast, no microorganisms were found in mineral water Baldovská, Salvator, Čerínska, Slatina and healing water Korytnica. The higher number of sporulated anaerobic bacteria had mineral water and Budiš Čerínska. Not sporulated anaerobic bacteria were detected in samples of mineral water Mitická, Ľubovnianska, Slatina, Baldovská, Budiš and medicinal water Fatra. Although the presence of microscopic fungi in mineral waters is prohibited under the requirements of the Codex Alimentarius, microscopic fungi were found in mineral waters Slatina, Mitická, Baldovská, Budiš, Klášťorná, Ľubovnianska and Čerínska. In samples of mineral and curative waters occurred mainly colonies of *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* and *Fusarium sp.* Based on these results, we can say that in the performance of mineral and curative waters to prevent fecal contamination. However, mineral water Slatina, Mitická, Baldovská, Budiš, Klášťorná, Ľubovnianska and Čerínska failed microbiological quality of mineral waters, because they contained microscopic fungi.

**Keywords:** mineral water, medicinal water, microorganisms, classification

---

## OBSAH

Úvod.....	10
<b>1 Súčasný stav riešenej problematiky doma a v zahraničí.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1 História minerálnych a liečivých vôd na Slovensku.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2 Definícia minerálnych a liečivých vôd.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3 Klasifikácia minerálnych a liečivých vôd.....</b>	<b>14</b>
1.3.1 Klasifikácia minerálnych vôd.....	14
1.3.2 Klasifikácia liečivých vôd .....	18
<b>1.4 Vznik a zachytávanie minerálneho prameňa.....</b>	<b>20</b>
1.4.1 Vznik prameňa .....	20
1.4.2 Zachytávanie prameňa .....	21
<b>1.5 Ochrana prírodných zdrojov minerálnych a liečivých vôd .....</b>	<b>23</b>
<b>1.6 Požiadavky na balenie a úpravu vôd.....</b>	<b>24</b>
<b>1.7 Chemické zloženie minerálnych a liečivých vôd.....</b>	<b>26</b>
1.7.1 Sodné katióny .....	27
1.7.2 Draselné katióny .....	27
1.7.3 Vápenaté katióny .....	28
1.7.4 Horečnaté katióny .....	29
1.7.5 Hydrogénuhličitanové anióny .....	29
1.7.6 Síranové anióny .....	29
1.7.7 Chloridové anióny.....	30
1.7.8 Fluoridové anióny.....	30
1.7.9 Ďalšie ióny .....	31
<b>1.8 Mikrobiológia minerálnych a liečivých vôd .....</b>	<b>31</b>
1.8.1 Všeobecná charakteristika mikroorganizmov .....	31
1.8.2 Faktory ovplyvňujúce rast mikroorganizmov .....	32
1.8.2.1 Vnútorne faktory .....	32
1.8.2.2 Vonkajšie faktory .....	37
1.8.3 Zákonitosti rastu mikroorganizmov .....	38

---

1.8.4 Požiadavky na mikrobiologickú kvalitu minerálnych vôd.....	39
1.8.4.1 <i>Baktérie</i> .....	40
1.8.4.2 <i>Mikroskopické huby</i> .....	43
<b>1.9 Účinky vybraných značiek prírodných minerálnych a liečivých minerálnych vôd na našom trhu.....</b>	<b>47</b>
1.9.1 Účinky prírodných minerálnych vôd stolových na našom trhu.....	47
1.9.2 Účinky prírodných liečivých minerálnych vôd na našom trhu.....	49
<b>2 Cieľ práce.....</b>	<b>51</b>
<b>3 Metodika práce a metódy skúmania.....</b>	<b>52</b>
3.1 Odber vzorky .....	52
3.2 Postup práce .....	52
3.3 Zloženie živných pôd .....	53
3.4 Stanovenie počtu koliformných mikroorganizmov .....	56
3.5 Stanovenie celkového počtu mikroorganizmov .....	56
3.6 Stanovenie anaeróbných sporulujúcich baktérií .....	57
3.7 Stanovenie mikroskopických húb .....	57
<b>4 Výsledky práce a diskusia.....</b>	<b>59</b>
4.1 Mikrobiologická kvalita vôd sledovaná v auguste 2010.....	59
4.2 Mikrobiologická kvalita vôd sledovaná v októbri 2010.....	62
<b>Záver.....</b>	<b>70</b>
<b>Zoznam použitej literatúry.....</b>	<b>72</b>
<b>Prílohy.....</b>	<b>78</b>



---

## Zoznam použitých skratiek

**CPM** – celkový počet mikroorganizmov

**EÚ** – Európska Únia

**KTJ** – kolóniu tvoriaca jednotka

**MH** – medzná hodnota

**mg** – miligram

**ml** - mililiter

**MO** – mikroorganizmy

**MPA** – mäso-peptónový agar

**NMH** – najvyššia medzná hodnota

**PET** – polyetyléntereftalát

**STN** – slovenská technická norma

**sp.** - species

**spp.** - subspecies

---

## Úvod

Voda je jedna z najdôležitejších vecí na Zemi. Tvorí podstatnú časť obsahu živých organizmov, je nevyhnutná k životu pre mnohé svoje vlastnosti. Transportuje živiny do živého organizmu a zabezpečuje vylučovanie produktov metabolizmu týchto organizmov. Mnohé živé organizmy sú prispôsobené pre život vo vode, dokonca sú na vode závislé.

Voda je jeden zo základných častí biosféry, plní veľa funkcií prospešných pre ľudí. Človek má svoje telo zložené z 80 % z vody. Voda je nevyhnutná pre ľudskú osobnú potrebu, na priemyselnú, ale aj poľnohospodársku výrobu. Je súčasťou každodenného života. Vo veľkom ju človek využíva na vznik energie a na dopravu.

Slovensko sa radí medzi štáty z najvyšším počtom minerálnych a liečivých vôd. Hojnosť výskytu ich prameňov i možnosti liečebného a technického využitia stavia Slovensko do popredia európskeho záujmu od stredoveku. Ľudia minerálne a liečivé vody poznali od dávna, vážili si ich a niektoré aj využívali. Tieto sa odjakživa pokladali za zázračné, podivuhodné, keďže majú vraj moc liečiť choroby a prinavracajú zdravie.

Výskyt minerálnych a liečivých vôd je rozložený takmer po celom území Slovenskej republiky. Prevažná väčšina týchto prameňov má však veľmi malú výdatnosť, čo znamená výpust minerálnej alebo liečivej vody iba niekoľko desiatín či stotín litra za hodinu. Majú však pestrosť v chemickej skladbe. Na našom území sa nachádzajú takmer všetky známe typy minerálnych vôd, okrem rádioaktívnych. Niektoré z týchto prameňov sú v súčasnosti využívané na komerčné účely a to na plnenie do spotrebiteľských obalov a predaj. Ďalšie využívajú obyvatelia miest a dedín, nachádzajúcich sa v blízkosti minerálnych prameňov.

Na Slovensku sa môžeme pochváliť výskytom minerálnych vôd studených, teplých ale i horúcich. Tiež sa tu vyskytujú minerálne vody pitné, stolové, ale i liečivé s vynikajúcimi a neobyčajnými účinkami na ľudský organizmus a zdravie.

Továrenské plnenie fliaš minerálnymi a liečivými vodami a ich úspešná propagácia viedla k všeobecnej predstave, že tieto vody sú čisté, dokonale čisté vody a bezpečné pre ľudskú spotrebu.

Mnoho, ak nie aj väčšina ľudí verí, že takto balená minerálna a liečivá voda je lepšia ako voda z prameňa, alebo vodovodu. A to v tom ohľade, že neobsahuje žiadne mikroorganizmy. Toto však nie je pravda, pretože minerálne vody obsahujú charakteristickú bakteriálnu mikroflóru a určité množstvo mikroskopických húb.

---

Napriek tomu, že v laickej verejnosti sa o mikrobiologickej kvalite našich minerálnych a liečivých vôd veľa nevie, odborná verejnosť má o mikrobiologickú kvalitu týchto vôd veľký záujem. V rámci EÚ sa uvádzanie prírodných vôd na trh riadi smernicou Rady. A na Slovensku tiež platia predpisy pre daný prípustný obsah mikroorganizmov ukotvený v Potravinovom kódexe.

Minerálne vody a liečivé vody sú v súčasnosti plnené v plastových fľašiach, kde môžu byť skladované niekoľko mesiacov. Avšak, veľmi malá pozornosť sa venuje prípadným zmenám v kvalite týchto nápojov po dlhšom skladovaní v plastových nádobách z hľadiska mikrobiologického zloženia.

---

# 1 Súčasný stav riešenej problematiky

## 1.1 História minerálnych a liečivých vôd na Slovensku

Od nepamäti vyviera na našom území ohromné množstvo prameňov liečivých minerálnych vôd. Ich bohatstvo a rozmanitosť typov minerálnych a liečivých vôd na Slovensku podmienili vznik kúpeľnej a pitnej liečby (Zeman et al., 1999).

Prvý záujem o minerálne vody je liečebný. Človek poznáva výborné zdravotné účinky predovšetkým termálnych vôd a neskôr aj liečivé účinky studených minerálnych vôd s rôznym chemickým zložením. V 16. storočí sa objavujú prvé rozborý minerálnych vôd. Zo slovenských minerálnych vôd prvú analýzu urobil Tomáš Jordan z Klužu, ktorý analyzoval okrem niektorých moravských minerálnych vôd aj termálnu vodu z Trenčianskych Teplíc a to roku 1580 (Rebro, 1996).

Hoci písomné doklady o existencii minerálnych vôd na území Slovenska pochádzajú už z ranného stredoveku, prvý systematický opis týchto vôd je až v diele Juraja Wenhera „*O podivuhodných vodách Uhorska*“ (*De admirandis Hungariae aquis hypomnemation*) z roku 1549. Zaoberal sa vodami termálnymi, minerálnymi, obyčajnými, riečnymi i krasovými (Jankovič, 1997).

Ako prvé zo všetkých minerálok sa na území dnešného Slovenska začali plniť minerálne vody zo Slatiny a Santovky (<http://www.slatina.sk>).

Prírodnú minerálnu vodu Budiš objavil už v roku 1573 benediktínsky mních Mikuláš Pavol Brikcius ([www.budis.sk](http://www.budis.sk)).

Prvá zmienka o minerálnej vode Fatra sa zjavila v tlači v roku 1929 v súvislosti so vzácnym nálezom prútikára Hebdu ([www.budis.sk](http://www.budis.sk)).

Korytnica - uhorskí veľmoži ju s obľubou pili od 17. storočia. Roku 1782 bol podaný prvý oficiálny návrh na využívanie liečivých vlastností Korytnice. V polovici 19. storočia sa minerálna voda začala plniť do fliaš a predávať po celom západnom Slovensku. ([www.korytnica.sk](http://www.korytnica.sk)).

Minerálne vody vo Zvolenskej pahorkatine sú pramene v Čáčine, Čeríne, na Sliachi a Borovej hore. Prvá zmienka o týchto prameňoch pochádza z obdobia vlády Bélu IV, a to z roku 1243. Najväčšie využitie začali získavať pramene minerálnej vody až v 19. storočí. Prameň Čerínskej minerálky svoju novodobú históriu začal písať po roku 1979 ([www.cerinska.sk](http://www.cerinska.sk)).

---

## 1.2 Definícia minerálnych a liečivých vôd

Prvá definícia minerálnych vôd podľa obsahu látok a teploty pochádzala od Hintza a Grunhunta z roku 1907. Návrh rozšírenej definície bol prijatý roku 1912 tzv. Nauheimským uznesením a stal sa základom pre definíciu a medzné hodnoty minerálnych vôd. Z podzemnej sa stáva minerálna voda, ak v nej rozpustené tuhé látky, plyny ale aj teplota prekročia určité medzné hodnoty. Stačí prekročenie jednej z nich (Hynie, 1963).

Prírodnou minerálnou vodou sa rozumie podľa Nariadenia vlády č. 263/2004 Z.z. mikrobiologicky nezávadná podzemná voda vyvierajúca z prameňa cez jeden alebo viaceré prirodzené alebo umelo vytvorené otvory a spĺňa kvalitatívne požiadavky podľa osobitného predpisu.

**Minerálna voda** je číra, bezfarebná až nažltlá voda so slabým zákalom; na dne a na stenách obalu môže vytvárať jemný sediment. Minerálna voda nesmie obsahovať mechanické nečistoty, chuť a pach musia byť charakteristické pre príslušný prírodný zdroj; nesmie mať netypické zmyslové vlastnosti, musí mať stále chemické zloženie, stále fyzikálne vlastnosti, nesmie sa vyznačovať výraznejšími farmakologickými účinkami. Musí vyhovovať mikrobiologickým, fyzikálnym a chemickým požiadavkám (Mračko, 2003).

V tretej časti Potravinového kódexu v dvadsiatej piatej hlave o nápojoch je podľa §2 prírodná minerálna voda je zdravotne neškodná podzemná voda získaná z prirodzených alebo umelo navrtaných schválených zdrojov minerálnej vody pôvodnej čistoty, obsahujúca zvýšené množstvo fyziologicky významných zložiek, ktorá svojím špecifickým fyzikálnym, chemickým a mikrobiologickým zložením a zmyslovými vlastnosťami je v obmedzenom množstve a občasnom požívaní vhodná ako nápoj.

Výnosom Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 15. marca 2004 č. 608/9/2004 - 100, *ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca prírodnú minerálnu vodu, pramenitú vodu a balenú pitnú vodu*, sa v dvadsiatej ôsmej hlave vymedzuje pojem prírodná minerálna voda ako mikrobiologicky bezchybná podzemná voda s pôvodom v podzemnej vrstve, vyvierajúca z prameňa cez jeden prirodzený otvor alebo viaceré prirodzené otvory alebo umelo vytvorené otvory, získaná zo zdroja minerálnej vody vyhláseného podľa osobitného predpisu, ktorú možno uvádzať do obehu v pôvodnom stave alebo po povolenej úprave.

---

**Liečivá voda** je číra, bezfarebná až nažltlá, môže mať slabý zákal; na dne a stenách obalu môže vytvárať jemný sediment. Nesmie obsahovať mechanické nečistoty a chuť a pach musia byť charakteristické pre príslušný prírodný liečivý zdroj. Liečivá voda musí vyhovovať fyzikálnym, chemickým, mikrobiologickým a rádiologickým požiadavkám, ktoré sú určené osobitne pre každý druh tejto vody ministerstvom zdravotníctva (Mračko, 2003).

Vymedzenie pojmov druhov minerálnych vôd sa nachádza aj v tretej časti Potravinového kódexu v dvadsiatej piatej hlave o nápojoch. Podľa §2 sú vymedzené pojmy *prírodná liečivá voda* je zdravotne neškodná voda z podzemného zdroja, ktorá vzhľadom na svoje chemické zloženie a fyzikálne vlastnosti má pre ľudské zdravie preukázateľné prospešné účinky.

Vyhláškou MZ SR č. 100/2006 zo 6. februára 2006 sa ustanovujú požiadavky na *prírodnú liečivú vodu*. Prírodná liečivá voda je mikrobiologicky bezchybná podzemná voda, ktorá vyviera na zemský povrch z jednej alebo viacerých prirodzených alebo umelých výstupných ciest.

### **1.3 Klasifikácia minerálnych a liečivých vôd**

#### **1.3.1 Klasifikácia minerálnych vôd**

Podľa Hanigovskej (2008) Podľa množstva rozpustených pevných látok sa rozdeľujú minerálne vody na:

- *obyčajné* (jednoduché) - s celkovou mineralizáciou do 1000 mg v jednom litri;
- *minerálne* - s nízkou mineralizáciou od 1000 do 5000 mg.l<sup>-1</sup>, so strednou mineralizáciou od 5000 do 15 000 mg.l<sup>-1</sup>, s vysokou mineralizáciou nad 15 000 mg.l<sup>-1</sup>.

Podľa novej Vyhlášky MZ SR č. 100/2006 sa prírodné minerálne vody delia podľa:

1) Podľa obsahu celkových rozpustených tuhých látok sa prírodné minerálne vody členia na:

- a) veľmi nízko mineralizované, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom rozpustených tuhých látok do 50 mg.l<sup>-1</sup>,
- b) nízko mineralizované, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad 50 mg.l<sup>-1</sup> a do 500 mg.l<sup>-1</sup>,

- c) stredne mineralizované, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad 500 mg.l<sup>-1</sup> a do 1 500 mg.l<sup>-1</sup>,
- d) vysoko mineralizované, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad 1 500 mg.l<sup>-1</sup> a do 5 000 mg.l<sup>-1</sup>,
- e) veľmi vysoko mineralizované, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad 5 000 mg.l<sup>-1</sup> a do 15 000 mg.l<sup>-1</sup>,
- f) soľanky, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad 15 000 mg.l<sup>-1</sup>.

2) Podľa obsahu a druhu rozpustených plynných látok sa prírodné minerálne vody členia na:

- a) kyselky, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom oxidu uhličitého nad 250 mg.l<sup>-1</sup>,
- b) sulfánové, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom sulfánu nad 1 mg.l<sup>-1</sup> alebo sírne nad 1 mg.l<sup>-1</sup> titrovateľnej síry; v rôznom stupni disociovaný sulfán a tiosírany.

**Tab. 1 Rozdelenie vody podľa obsahu iónov**  
(Vyhláška č. 212/2000 MZ SR z 3. júna 2000)

Trieda vôd podľa prevládajúceho aniónu	Skupina vôd podľa prevládajúceho katiónu			
	a	b	c	d
1. Hydrogenuhličitanové vody				
2. Síranové vody				S iným
3. Chloridové vody	sodné	horečnaté	vápenaté	prevládajúcim katiónom
4. Vody s iným prevládajúcim aniónom				

---

3) Podľa obsahu prevládajúcich iónov – aniónov, ktoré sú v súčinoch látkovej koncentrácie a nábojového čísla zastúpené najmenej 20 %, pričom ich súčet predstavuje 100 %; to isté platí pre katióny. Typ vody sa charakterizuje v poradí od najviac zastúpených iónov, a to najprv pre anióny, ako hydrogénuhličitan, sírany, chloridy alebo iné anióny, potom pre katióny, ako vápnik, horčík, sodík alebo iný kation.

4) Podľa obsahu farmakologicky významných iónov, prvkov a zlúčenín sa prírodné minerálne vody členia na vody:

- a) so zvýšeným obsahom sodíka, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom najmenej 200 mg.l<sup>-1</sup> iónu sodíka,
- b) so zvýšeným obsahom chloridov, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom najmenej 200 mg.l<sup>-1</sup> chloridového iónu,
- c) so zvýšeným obsahom síry, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom najmenej 1 mg.l<sup>-1</sup> sulfidickej síry,
- d) so zvýšeným obsahom jódu, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom najmenej 2 mg.l<sup>-1</sup> jodidového iónu,
- e) so zvýšeným obsahom železa, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom najmenej 1 mg.l<sup>-1</sup> železnatého iónu,
- f) so zvýšeným obsahom hydrogénuhličitanov, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom najmenej 600 mg.l<sup>-1</sup> hydrogénuhličitanového iónu,
- g) so zvýšeným obsahom síranov, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom najmenej 200 mg.l<sup>-1</sup> síranového iónu,
- h) radónové, ktorými sú prírodné minerálne vody s objemovou aktivitou <sup>222</sup>Rn (radónu) nad 666 Bq.l<sup>-1</sup>,
- i) so zvýšeným obsahom výživno-fyziologických prvkov a zlúčenín, ktorými sú prírodné minerálne vody s obsahom najmenej
  - 1 mg.l<sup>-1</sup> fluoridového iónu,
  - 2 mg.l<sup>-1</sup> zinku,
  - 2 mg.l<sup>-1</sup> lítia,
  - 5 mg.l<sup>-1</sup> mangánu,
  - 0,5 mg.l<sup>-1</sup> selénu,
  - 50 mg.l<sup>-1</sup> horčíka,



- 
- 150 mg.l<sup>-1</sup> vápnika,
  - 30 mg.l<sup>-1</sup> bóru alebo
  - 50 mg.l<sup>-1</sup> kyseliny kremičitej.

5) Podľa hodnoty pH sa vody rozdeľujú na:

- a) silne kyslé, ktorými sú vody s hodnotou pH do 3,5,
- b) kyslé, ktorými sú vody s hodnotou pH nad 3,5 do 5,5,
- c) slabo kyslé, ktorými sú vody s hodnotou pH nad 5,5 do 6,9,
- d) neutrálne, ktorými sú vody s hodnotou pH nad 6,9 do 7,1,
- e) slabo alkalické, ktorými sú vody s hodnotou pH nad 7,1 do 8,5,
- f) silne alkalické, ktorými sú vody s hodnotou pH nad 8,5.

6) Podľa prirodzenej teploty na vývere sa vody rozdeľujú na:

- a) studené, ktorými sú vody s teplotou do 20 °C,
- b) termálne
  - 1) veľmi nízko termálne, ktorými sú prírodné minerálne vody s teplotou nad 20 °C a do 30 °C,
  - 2) nízko termálne, ktorými sú prírodné minerálne vody s teplotou nad 30 °C a do 40 °C,
  - 3) stredne termálne, ktorými sú prírodné minerálne vody s teplotou nad 40 °C do 70 °C,
  - 4) vysoko termálne, ktorými sú prírodné minerálne vody s teplotou nad 70 °C a do 100 °C,
  - 5) prehriate, ktorými sú prírodné minerálne vody s teplotou nad 100 °C.

7) Podľa osmotického tlaku sa vody rozdeľujú na:

- a) hypotonické, ktorými sú vody s osmotickým tlakom do 280 mO.l<sup>-1</sup>,
- b) izotonické, ktorými sú vody s osmotickým tlakom nad 280 mO.l<sup>-1</sup> do 350 mO.l<sup>-1</sup>,
- c) hypertonické, ktorými sú vody s osmotickým tlakom nad 350 mO.l<sup>-1</sup>.

---

### 1.3.2 Klasifikácia liečivých vôd

Vyhláškou MZ SR č. 100/2006 zo 6. februára 2006 sa delia prírodné liečivé vody podľa rôznych kritérií.

1) Podľa obsahu celkových rozpustených tuhých látok sa prírodné liečivé vody členia na

- a) veľmi nízko mineralizované, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom rozpustených tuhých látok do  $200 \text{ mg.l}^{-1}$ ,
- b) nízko mineralizované, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad  $200 \text{ mg.l}^{-1}$  a do  $1\,000 \text{ mg.l}^{-1}$ ,
- c) stredne mineralizované, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad  $1\,000 \text{ mg.l}^{-1}$  a do  $5\,000 \text{ mg.l}^{-1}$ ,
- d) vysoko mineralizované, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad  $5\,000 \text{ mg.l}^{-1}$  a do  $10\,000 \text{ mg.l}^{-1}$ ,
- e) veľmi vysoko mineralizované, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad  $10\,000 \text{ mg.l}^{-1}$  a do  $35\,000 \text{ mg.l}^{-1}$ ,
- f) soľanky, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom rozpustených tuhých látok nad  $35\,000 \text{ mg.l}^{-1}$ .

2) Podľa obsahu a druhu rozpustených plynných látok sa prírodné liečivé vody členia na:

- a) uhličitú, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom oxidu uhličitého nad  $1\,000 \text{ mg.l}^{-1}$ ,
- b) sulfánové, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom sulfánu nad  $1 \text{ mg.l}^{-1}$  alebo sírny nad  $1 \text{ mg.l}^{-1}$  titrovateľnej síry; v rôznom stupni disociovaný sulfán a tiosírany.

3) Podľa obsahu prevládajúcich iónov – aniónov, ktoré sú v súčinoch látkovej koncentrácie a nábojového čísla zastúpené najmenej 20 %, pričom ich súčet predstavuje 100 %; to isté platí pre katióny. Typ vody sa charakterizuje v poradí od najviac zastúpených iónov, a to najprv pre anióny, ako hydrogénuhličitan, sírany, chloridy alebo iné anióny, potom pre katióny, ako vápnik, horčík, sodík alebo iný kation.

---

4) Podľa obsahu farmakologicky významných iónov, prvkov a zlúčenín sa prírodné liečivé vody členia na:

- a) slané, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom najmenej 5,5 g.l<sup>-1</sup> iónu sodíka a najmenej 8,5 g.l<sup>-1</sup> chloridového iónu,
- b) sulfidické, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom najmenej 1 mg.l<sup>-1</sup> sulfidickej síry,
- c) jódové, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom najmenej 1 mg.l<sup>-1</sup> jodidového iónu,
- d) železnaté, ktorými sú prírodné liečivé vody s obsahom najmenej 20 mg.l<sup>-1</sup> železnatého iónu,
- e) radónové, ktorými sú prírodné liečivé vody s celkovou objemovou aktivitou 222Rn (radónu) nad 666 Bq.l<sup>-1</sup>,
- f) prírodné liečivé vody so zvýšeným obsahom prvkov a zlúčenín, ktorými sú vody s obsahom najmenej
  - 1 mg.l<sup>-1</sup> fluoridového iónu,
  - 2 mg.l<sup>-1</sup> zinku,
  - 2 mg.l<sup>-1</sup> lítia,
  - 0,5 mg.l<sup>-1</sup> selénu,
  - 30 mg.l<sup>-1</sup> bóru,
  - 50 mg.l<sup>-1</sup> kyseliny kremičitej,
  - 500 mg.l<sup>-1</sup> vápenatého iónu,
  - 150 mg.l<sup>-1</sup> horečnatého iónu,
  - 1 200 mg.l<sup>-1</sup> síranového iónu,
  - 1 300 mg.l<sup>-1</sup> hydrogénuhličitanového iónu.

5) Podľa hodnoty pH sa prírodné liečivé vody členia na:

- a) silne kyslé, ktorými sú prírodné liečivé vody s hodnotou pH do 3,5,
- b) kyslé, ktorými sú prírodné liečivé vody s hodnotou pH nad 3,5 a do 5,5,
- c) slabokyslé, ktorými sú prírodné liečivé vody s hodnotou pH nad 5,5 a do 6,9,
- d) neutrálne, ktorými sú prírodné liečivé vody s hodnotou pH nad 6,9 a do 7,1,
- e) slabobazické, ktorými sú prírodné liečivé vody s hodnotou pH nad 7,1 a do 8,5,
- f) silne bazické, ktorými sú prírodné liečivé vody s hodnotou pH nad 8,5.

---

6) Podľa prirodzenej teploty vody pri vývere sa prírodné liečivé vody členia na

- a) studené, ktorými sú prírodné liečivé vody s teplotou do 20 °C,
- b) termálne
  - veľmi nízko termálne, ktorými sú prírodné liečivé vody s teplotou nad 20 °C a do 30 °C,
  - nízko termálne, ktorými sú prírodné liečivé vody s teplotou nad 30 °C a do 40 °C,
  - stredne termálne, ktorými sú prírodné liečivé vody s teplotou nad 40 °C a do 70 °C ,
  - vysoko termálne, ktorými sú prírodné liečivé vody s teplotou nad 70 °C a do 100 °C,
  - prehriate, ktorými sú prírodné liečivé vody s teplotou nad 100 °C .

7) Podľa osmotického tlaku sa prírodné liečivé vody členia na:

- a) hypotonické, ktorými sú prírodné liečivé vody s osmotickým tlakom do 710 kPa (280 mO.l<sup>-1</sup>),
- b) izotonické, ktorými sú prírodné liečivé vody s osmotickým tlakom nad 710 a do 760 kPa (280 – 300 mO.l<sup>-1</sup>),
- c) hypertonické, ktorými sú prírodné liečivé vody s osmotickým tlakom nad 760 kPa (300 mO.l<sup>-1</sup>).

## **1.4 Vznik a zachytávanie prameňa minerálnej a liečivej vody**

### **1.4.1 Vznik prameňa**

Na Slovensku bolo doteraz registrovaných asi 1284 minerálnych prameňov. Iba veľmi malá časť z nich zanikla úplne, ostatné vždy budú poukazovať na existenciu výstupných ciest. Vhodnými záchytnými prácami ich možno znovu oživiť. Najväčšie množstvo prameňov minerálnych vôd je na strednom Slovensku, kde je 629 prameňov, na východnom Slovensku je 409 prameňov a na západnom Slovensku je 246 prameňov. Vznik minerálnej vody vo všeobecnosti sa môže vysvetliť pomerne jednoducho (Hanigovská, 2008)

---

Zrážková voda prichádza na naše územie mračnami a vodnými parami. V atmosfére sa drobné kvapky vody obohacujú o niektoré prvky. Sú to najmä plyny ako oxid uhličitý, kyslík, uhlík, dusík, sírovodík i vzácne plyny, napr. hélium, argón a pod. Na kvalitu zrážkovej vody tiež pôsobia plynné exhaláty a popolčekové pevné častice, ktoré zhoršujú jej kvalitu. Len menšia časť zrážkovej vody sa infiltruje do zemskej kôry (Rebro, 1979).

Podľa Végha (1997) by sa dal samotný vznik minerálnych vôd stručne zhrnúť takto: voda zo zrážok zostupuje do veľkých hĺbok zeme, kde celé storočia v styku s horninami získava nové vlastnosti a chute, a po terénnych zlomoch neskôr vystupuje na povrch. Práve na Slovensku boli geologicko-tektonické podmienky na jej vznik veľmi dobré a množstvo, výdatnosť či zloženie prameňov predstihuje okolité krajiny.

Územie Slovenskej Republiky patrí medzi najbohatšie oblasti výskytu minerálnych vôd na svete. Väčšina minerálnych vôd u nás má vadózny pôvod, čo znamená, že ich pôvod je z povrchových zrážok. Vsiaknutá voda zo zrážok v styku s horninami je obohacovaná o rôzne zväčša anorganické soli a plynné zložky. Voda tak získava svoju prírodnú mineralizáciu. Tento pohyb vody od spadnutia zrážkovej vody na zemský povrch až po jej výron nad terén vo forme zdroja minerálnej vody môže trvať niekoľko mesiacov a viac (Kaliský, 1998).

#### **1.4.2 Zachytávanie prameňa**

Spôsob výstupu minerálnych vôd na zemský povrch sa deje za pomoci prameňov. Závisí hlavne od geologickej stavby územia ich výskytu. Naše najznámejšie minerálne a liečivé vody sa viažu na prostredie *karbonatických hornín centrálného západokarpatského a bradlového pásma*. Najväčšia koncentrácia prameňov minerálnych vôd sa vyskytuje na miestach najživších tektonických pohybov. Tieto pásma hornín umožňujú minerálnym a liečivým vodám priamo vystupovať na povrch (Hanigovská, 2008).

Prírodné minerálne vody sa tvoria v zložitých geologických podmienkach, teda aj spôsoby prieskumu a zachytávania týchto vôd sú rôznorodé. Na ich realizáciu nemožno vytvoriť univerzálnu šablónu. Pri týchto prácach treba postupovať podľa určitých zásad (Rebro et al., 1979).

Spôsob vykonávania vrtných prác musí byť taký, ktorý zaručuje možnosť okamžitej likvidácie vrtov, alebo ich uzavretie. Pri vrtných prácach musí súbežne

---

spracovávať a doplňovať dokumentácia vrtu. Ak sa vo vrte zistili minerálne vody, musia sa okamžite overiť všetky hydrogeologické, hydrologické a hydrochemické faktory a prípadné korelácie s už existujúcimi zdrojmi (Krahulec, 1977).

Maximálnu využiteľnú výdatnosť a nezmenené fyzikálno-chemické vlastnosti minerálnej vody by malo zabezpečiť správne zachytenie (Rebro et al., 1979).

Podľa Božíkovej (2004) spôsoby zachytávania minerálnych a liečivých vôd prešli určitým vývojom podľa aktuálneho vedeckého poznania tvorby a charakteru vôd a hornín, a tiež technickým možnostiam a materiálom, používaným pri zachytávaní a budovaní záchytných zariadení. V zásade možno rozdeliť záchytné zariadenia do dvoch skupín:

- a) plytké
- b) hlboké.

Jedným z možných spôsobov *plytkého* zachytenia minerálnej a liečivej vody je pomocou záchytného zvona. Tento spôsob možno použiť iba vtedy, keď minerálna voda vyviera zo skalného podkladu rozptýlená na malej ploche. Sondami sa musí overiť hĺbka, uloženia skalného podkladu, jeho kompaktnosť alebo stupeň narušenia, a úroveň prípadnej hladiny podpovrchových obyčajných vôd. Po očistení skalného podkladu sa odkryjú miesta výverov, nad ktorými sa vybuduje záchytný zvon zo špeciálneho druhu tehál – zvoniviek. Vnútorý priestor záchytného zvonu sa vyplní triedeným štrkom. Minerálna voda zo záchytného zvona sa vyvedie antikorovým potrubím (Krahulec, 1977).

*Hĺbkové zachytávanie* minerálnych vôd vrtmi zachytí minerálnu vodu na jej výstupových cestách vo väčších hĺbkach, alebo v oblasti akumulácie, kde vplyv zmeny teploty a tlaku je minimálny, resp. nulový a taktiež sa nepredpokladá kontaminácia, prípadne iba minimálna. Vrty môžu byť realizované do desiatok až do niekoľko 100 metrov (Božíková, 2004).

Väčšina minerálnych vôd má agresívne účinky na mnohé kovové a iné materiály. Preto pri budovaní záchytných objektov i rozvodov minerálnej vody sa musia voliť na použitie materiály dostatočne odolné proti ich agresivite. Odolné materiály používame nielen pre ich dlhú životnosť a aj z hľadiska zachovania pôvodnej kvality vôd (Rebro, 1979).

Správne zachytenie musí splniť jediný cieľ. Zachytiť minerálnu vodu bez strát na množstve vody a bez zmien jej všetkých vlastností (Božíková, 2004).

---

Minerálne vody, získavané z prírodných prameňov alebo z umelo zachytávaných zdrojov podzemných vôd, sa upravujú jednoduchými postupmi, ako sú oddeľovanie nestabilných látok filtráciou, odstredenie alebo doplnenie straty oxidu uhličitého (Végh, 1997).

Výroba minerálnych vôd má svoju typickú technológiu. Vodu treba akumulovať, chladiť, dopĺňať o oxid uhličitý, znížiť výrobu mimo sezóny, treba odstraňovať sírovodík z minerálnej vody, alebo aj demineralizovať (Kaliský, 1998).

## **1.5 Ochrana prírodných zdrojov minerálnych a liečivých vôd**

Ochrana prírodných liečivých zdrojov a prírodných zdrojov minerálnych vôd je neoddeliteľnou súčasťou ich existencie a využívania. Používateľ je povinný dodržiavať podmienky určené v povolení. Týka sa to rozsahu a spôsobu použitia, hydrologických a chemických sledovaní zdroja vody, údržby technických zariadení potrebných na využitie zdroja. Pri využívaní vôd na pitie musí byť pri všetkých ich zdrojoch s výraznými farmakodynamickými účinkami upozornenie na zdravotný účinok vody (Krahulec, 1977).

Prírodné liečivé zdroje a prírodné zdroje minerálnych vôd stolových sa chránia pred takou činnosťou, ktorá môže narušiť, alebo inak nepriaznivo ovplyvniť ich výdatnosť, fyzikálne vlastnosti, chemické zloženie alebo ich zdravotnú bezchybnosť. Ochrana týchto zdrojov sa vykonáva zo štyroch základných hľadísk, a to ako:

- 1) ochrana pred škodlivou ľudskou činnosťou v oblasti zdrojov – ochrana vonkajšia,
- 2) ochrana vlastného zdroja ako hydrologického objektu – ochrana vnútorná,
- 3) ochrana vlastnosti a produktov zdroja pri použití zdroja na pitné účely ako stolové vody,
- 4) ochrana prostredia (Krahulec, 1977).

Vzhľadom na spoločenský význam minerálnych vôd, ktoré sú vyhlásené za prírodné liečivé zdroje a zdroje prirodzene sa vyskytujúce ako stolové minerálne vody, prišlo sa k vymedzeniu ochranných pásiem I, II, a III stupňa, s ich presným ohraničením a vytypovaním ochranných opatrení (Kaliský, 1998).

Nariadenie vlády SR č. 263/2004 *o podmienkach uznania prírodných minerálnych vôd* definuje, že ochrana zdrojov prírodných minerálnych vôd sa zabezpečuje podľa osobitných predpisov.

---

## 1.6 Požiadavky na balenie a úpravu vôd

Získanie a úprava minerálnej vody a liečivej vody, vrátane plnenia do obalov, musí prebiehať tak, aby sa vylúčila možnosť kontaminácie vody. Pred začatím plnenia musí byť zariadenie prepláchnuté vodou, ktorej kvalita je totožná s kvalitou vody určenej na plnenie. Z každej výrobnjej dávky sa musí odobrať vzorka vody a musia sa zabezpečiť jej laboratórne skúšky (Mračko, 2003).

Preprava minerálnej a liečivej vody zo zdroja na miesto jej plnenia a balenia možno uskutočňovať len zdravotne neškodným potrubím, ktoré bolo na tento účel schválené orgánom na ochranu zdravia. Na balenie minerálnej vody a liečivej vody sa môžu používať sklenené fľaše a iné zdravotne neškodné a funkčne vyhovujúce obaly. Pri plnení spotrebiteľských obalov sú zákon prípustné určité odchýlky od deklarovaného množstva. Spotrebiteľský obal, ktorý sa používa musí mať uzáver zabraňujúci manipulácií s vodou a jej kontaminácii. Minerálnu vodu a liečivú vodu možno baliť do spotrebiteľských obalov o objeme najviac 2 000 ml (Mračko, 2003).

Výnos MP SR a MZ SR z 15. marca 2004 č. 608/9/2004 - 100 upravuje podmienky na spotrebiteľský obal. Tento určený na plnenie minerálnej vody, pramenitej vody a balenej pitnej vody musí byť vyrobený z materiálu vhodného na dlhodobý styk s vodou, musí mať uzáver, ktorý musí byť zabezpečený poistkou, ktorá sa pri otvorení spotrebiteľského obalu poškodí.

Na spotrebiteľskom obale liečivých vôd musí byť uvedené nielen chemické zloženie, množstvo farmakologicky významných iónov, ale aj obmedzenie používania, ak to vyplýva z jej zloženia a informácií o tom, pre akú skupinu užívateľov je určená, odporúčanie používania pri prevencii a liečbe chorôb (Mračko, 2003).

**Úprava podzemnej vody na pitnú:** nekontaminované minerálne vody neobsahujú organické znečistenie, zato v niektorých prípadoch obsahujú minerálne zlúčeniny, ktoré je nutné odstrániť pre ich korozívne účinky na materiál rozvodovej siete (CO<sub>2</sub>) alebo naopak pre nebezpečie jeho zanášania a z dôvodu dosiahnutia lepšej kvality pre pitné účely (Malý a Malá, 2006).

Odkysľovanie vody - voľný oxid uhličitý v koncentrácii vyšší než zodpovedá rovnovážnemu stavu je príčinou agresivity vody voči betónu, prípadne železu. Metódy, ktorými je CO<sub>2</sub> z vody odstraňovaný, sa nazýva odkysľovanie, ktoré sa prevádza:



---

a) prevzdušňovaním - pri tomto postupe nedochádza k zvýšeniu koncentrácie  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$  iónov, pri aerácii dochádza niekedy aj k odstráneniu pachových látok z vody. Prebieha niekoľkými postupmi: rozprašovaním vody, sprchovaním a kropením, vháňanie vzduchu do vody

b) chemickými postupmi – spočíva v reakcii  $\text{CO}_2$  s niektorými látkami, ktoré sú buď vo vode minimálne rozpustené a aplikujú sa v kolóne, alebo sú viacmenej rozpustné, a potom sa do upravovanej vody dávajú (Malý a Malá, 2006).

Hlavnou úlohou odkysľovania je nielen zvýšiť pH odstránením alebo viazaním  $\text{CO}_2$ , ale dosiahnuť uhličitanovú rovnováhu. Najlacnejším spôsobom je odkysľovanie hydroxidom vápenatým (Chmielewská, 2004).

Odstraňovanie železa a mangánu - zlúčeniny železa a mangánu, sú príčinou rôznych technologických ťažkostí, v pitnej vode navyše dodávajú nežiadúce chuťové vlastnosti. V podzemných vodách s nízkym obsahom kyslíka sa železo vyskytuje najčastejšie v oxidačnom stupni II. Mangán sa v prírodných vodách nachádza výlučne v oxidačnom stupni II v rozpustenej forme, výnimočne tiež komplexne viazaný na organické látky. Kým výskyt železa vo vode bez mangánu je bežný, samotný mangán sa vyskytuje zriedka (Chmielewská, 2004).

*Odželezovanie vody* - postupy môžeme rozdeliť na:

- 1) oxidačné (chemické alebo biochemické)
- 2) koagulačné
- 3) pomocou ionomeničov.

Princípom oxidačných postupov je oxidácia  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$  a následná hydrolyza železitej soli na málo rozpustný hydroxid železitý, ktorý sa potom odstráni filtrovaním, prípadne sedimentáciou. K oxidácii sa používa vzdušný kyslík alebo iná, silnejšia oxidačná látka (Malý a Malá, 2006).

*Odmangámovanie vody* - postupy sú rozdelené na:

- 1) oxidačné,
- 2) pomocou ionomeničov.

Princípom oxidačných postupov je oxidácia  $\text{Mn}^{2+}$  na  $\text{Mn}^{3+}$ , resp.  $\text{Mn}^{4+}$  a následná hydrolyza týchto iónov na málo rozpustné hydroxidy, prípadne hydratované oxidy. K

oxidácii sa používa vzdušný kyslík alebo iná, silnejšia oxidačná látka. Pre tento účel môžeme využívať i baktérie oxidujúce mangánaté ióny (Malý a Malá, 2006).

## 1.7 Chemické zloženie minerálnych a liečivých vôd

Podľa Rebra et al. (1979) sa pri svojej tvorbe minerálnej vody obohacujú iónmi jednotlivých kationov a aniónov. Môžu sa v nich vyskytovať v základnom zložení a v stopových množstvách (pod 0,1 mg.l<sup>-1</sup>). Všeobecne známe kationy, ktoré:

- silne prevládajú sú: sodík Na<sup>+</sup>, draslík K<sup>+</sup>, vápnik Ca<sup>2+</sup>, horčík Mg<sup>2+</sup>;
- pridružené: lítium Li<sup>+</sup>, stroncium Sr<sup>2+</sup>, bárium Ba<sup>2+</sup>, železo Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, mangán Mn<sup>2+</sup>,
- v stopách: vodík H<sup>+</sup>, rubídium Rb<sup>+</sup>, kobalt Co<sup>+</sup>, amoniak NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, zinok Zn<sup>2+</sup>, nikel Ni<sup>2+</sup>, meď Cu<sup>2+</sup>, olovo Pb<sup>2+</sup>, ortuť Hg<sup>2+</sup>, hliník Al<sup>3+</sup>.

Z aniónov prevládajú:

- bikarbonáty: HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, sírany SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, chloridy Cl<sup>-</sup>,
- pridružené: bróm Br<sup>-</sup>, jód I<sup>-</sup>, fluór F<sup>-</sup>, dusičnany NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, fosforečnany HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, AsO<sub>3</sub><sup>4-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HS<sup>-</sup>, boritany, a iné.

**Tab. 2 Prehľad kation a aniónov najčastejšie zastúpených v slovenských minerálnych vodách (Cisárik et al., 2006)**

kationy, rozsah koncentrácií, mg.l <sup>-1</sup>		anióny, rozsah koncentrácií, mg.l <sup>-1</sup>	
Na <sup>+</sup>	71,1 - 8505.35	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	653,0 - 16429.64
Ca <sup>2+</sup>	44,6 - 584.5	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	85.0 - 1 259.8
Mg <sup>2+</sup>	45.6 - 344.3	Cl <sup>-</sup>	17.1 - 3628.65
K <sup>+</sup>	15.0 - 156.95	F <sup>-</sup>	0.1 - 1.75
Fe <sup>2+</sup>	0.2 - 21.2	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	<1
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	<1	HBO <sub>2</sub>	0 - 517.26

Ďalej sú v nich zastúpené neelektrolyty: kyselina boritá HBO<sub>2</sub>, kyselina kremičitá H<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>, kyselina titánová H<sub>2</sub>TiO<sub>3</sub> a organické látky. Prehľad kationov a aniónov, ktoré

---

sú najčastejšie zastúpené v slovenských minerálnych a liečivých vodách, a rozsah ich koncentrácií uvádza tabuľka 2.

V prevažnej väčšine našich minerálnych vôd je dominujúcou zložkou oxid uhličitý, ktorý je juvenilného hĺbkového pôvodu, iba v malej miere pochádza z atmosféry (Rebro, 1996).

### **1.7.1 Sodné katióny**

Sodík je v poradí tretím najviac zastúpeným prvkom vo vodách (za vápnikom a horčíkom). Zastúpenie týchto prvkov vo vodách nie je hygienicky závadné. Práve naopak. Hydrogénuhličitanové sodné minerálne vody sú využívané pri liečbe žalúdočných ochorení (Holobradý, 1991).

Sodík riadi množstvo vody v bunkách, ale aj mimo buniek, zúčastňuje sa na regulácii acidobázickej rovnováhy, ovplyvňuje príjem cukru v bunkách. Je potrebný na prenos vzruchov vo svaloch a v nervoch (Hopfenzitzová, 1999).

Optimálna voda by však nemala obsahovať viac než 200 mg sodíka v 1 litri. Nadmerný príjem sodíka môže viesť ku hromadeniu tekutín v tele tiež opuchom a u náchylných jedincov k zvýšeniu krvného tlaku. Jeho príjem by teda mali redukovať najmä ľudia trpiaci na ochorenia kardiovaskulárneho systému a obličiek (Hrušovský, 2008).

Vody s vyšším obsahom sodíka sú vhodné iba pri stavoch spojených so zvýšenými stratami tekutín i minerálov, ale i pri hnačkových ochoreniach. (Hrušovský, 2008).

Nedostatok sodných iónov sa prejavuje najmä smädom, pocitom únavy, neschopnosťou jasne myslieť, bolesťami hlavy, a niekedy aj depresiami. Príznakom nedostatku sodíka sú tiež kŕče v lýtkach a prstoch nôh (Cisárik et al., 2006).

### **1.7.2 Draselné katióny**

Menší obsah draslíka v zemskej kôre sa vo všeobecnosti vysvetľuje jeho zvýšenou sorpciou ílovými minerálmi. Draslík tiež ako významná živina je z podzemných vôd prednostne odčerpávaná rastlinami (Holobradý, 1991).

V minerálnych vodách sa nevyskytuje draslík v koncentráciách, ktoré by ohrozovali zdravie človeka. Ak je nadbytok sodíka v minerálnej vode vyšší (pomer je 10 a viac), prijímaný draslík nemá požadovaný dietetický účinok (Cisárik et al., 2006).

---

Katión  $K^+$  sa nachádza prevažne vo vnútri buniek. Nerovnomerné rozdelenie  $Na^+$  a  $K^+$  iónov je pre určité orgány, napr: nervy a svaly, základom ich funkcie. Draslík ovplyvňuje acidobázickú rovnováhu v organizme a zadržiavanie vody (Poláček et al., 2005).

Nedostatok draslíka sa prejavuje svalovou ochabnosťou, poruchami v krvnom obeh, tráviacej sústave, poruchami činnosti srdca (arytmia) a nervového systému. Dlhodobý nedostatok draslíka môže byť negatívny na činnosť obličiek. Nadbytok sa prejavuje zmätenosťou, slabosťou, strnulosťou, ochabnutím dýchacích svalov, útlmom centrálnej nervovej činnosti (Cisárik et al., 2006).

### 1.7.3 Vápenaté katióny

Vápnik je kvantitatívne najvýznamnejšie zastúpený katión v ľudskom organizme. Až 99 % vápnika je viazaných v tvrdých tkanivách, kostiach a v zuboch, pričom sa viaže hlavne ako uhličitan a fosforečnan vápenatý. Len malé množstvo vápnika sa v organizme nachádza vo voľnej ionizovanej forme  $Ca^{2+}$  (Cisárik et al., 2006).

Najznámejšia je jeho funkcia neutralizátora organických kyselín, ktoré vznikajú ako odpadové produkty látkovej výmeny. Vápenaté ióny pomáhajú udržiavať osmotický tlak tekutín v rastlinnom a živočíšnom organizme (Poláček, 2005).

Vápnik ( $Ca^{2+}$ ) je nevyhnutný na regulácii akcie srdca, pri zrážaní krvi, podieľa sa na udržiavaní svalového tonusu a na nervovom prenose. Zdravý človek by mal uprednostňovať vodu, ktorá obsahuje v jednom litri 40 – 70 mg vápnika (Hrušovský, 2008).

Je nevyhnutné ho dopĺňať najmä v tehotenstve (zvýšená spotreba) a s pribúdajúcim vekom, kedy ho organizmus vstrebáva menej účinne ([www.korytnica.sk](http://www.korytnica.sk))

Nedostatok vápenatých solí v organizme sa prejavuje u detí krivicou (rachitis), u dospelých mäknutím kostí (osteomalácia) a u starších ľudí rednutím kostí (osteoporózou). Ďalšími dôsledkami nedostatku vápnika sú poruchy nervových vzruchov, zrážanlivosti krvi a srdcovými poruchami. Pri nadbytku vápnika sa dostavuje svalová kontraktivita, znížená nervová dráždivosť a srdcová arytmia (Cisárik et al., 2006).

---

#### **1.7.4 Horečnaté katióny**

Horčík sa nachádza v kostiach (asi 50-70 %), kde je horčík viazaný spolu s vápnikom. Ďalších 30 - 35 % sa nachádza vo svaloch a mäkkých tkanivách a len asi 1 % v extracelulárnych tekutinách (Cisárik et al., 2006).

Horčík je nevyhnutný pre správnu činnosť nervovej sústavy a srdcového svalu. Pomáha v prevencii kardiovaskulárnych ochorení tým, že predchádza zrážaniu krvi v tepnách a spôsobuje rozširovanie ciev. Pre zdravého človeka stačí 20 mg v jednom litri vody (Hrušovský, 2008).

Nedostatok horečnatých katiónov ovplyvňuje funkčnosť obličiek, štítnej žľazy, prištítnej žľazy a nervového systému. Prejavuje sa podráždenosťou, neurózami, migrénami, kŕčmi v nohách, rýchlou únavou, vypadávaním vlasov, lámavosťou nechtov a kazivosťou zubov. Chronický nedostatok horčíka sa dáva do súvislosti aj s aterosklerózou a výskytom karcinómov. Nadbytok horečnatých katiónov vzniká najmä pri zlyhaní obličiek, je však menej pravdepodobný, ako ich nedostatok v organizme (Cisárik et al., 2006).

Zvýšený obsah horčíka sa prejavuje horkou chuťou. Pre niektoré technologické účely je potrebné obsah vápnika a horčíka znížiť, naopak v niektorých slabo mineralizovaných vodách je potrebné pre zlepšenie kvality pitnej vody obsah vápnika zvýšiť (Holobradý, 1991).

#### **1.7.5 Hydrogénuhličitanové anióny**

Hydrogénuhličitanový anión má pre organizmus význam ako súčasť tlmivých sústav vo vnútornom prostredí organizmu. Hydrogénuhličitaný sú zastúpené v každej minerálnej vode. V minerálnych vodách býva prítomný najmä ako hydrogénuhličitan sodný. Ak je hydrogénuhličitanový anión zastúpený na úkor síranových či chloridových iónov, voda nadobúda mierne alkalický charakter a účinne pomáha pri ťažkostiach z prekyslenia (Cisárik et al., 2006).

#### **1.7.6 Síranové anióny**

Rozpustné formy síry sa môžu nachádzať vo vodách v rôznych oxidačných stupňoch -II, 0, IV a VI. Tiež sa môžu nachádzať vo formách ako sulfán a jeho iónové formy, elementárna síra, siričitany a sírany. Z hygienického hľadiska nie sú závadné, sú

---

limitované pre negatívne ovplyvňovanie sensorických vlastností - horká chuť (Holobradý, 1991).

Sírany sú rozpustné takmer všetky, nerozpustné sú  $\text{BaSO}_4$ ,  $\text{SrSO}_4$ ,  $\text{PbSO}_4$ , čiastočne rozpustné sú  $\text{CaSO}_4$ ,  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Hg}_2\text{SO}_4$  a  $\text{Tl}_2\text{SO}_4$ . (Poláček et al., 2005).

Síra patrí medzi biogénne prvky. Síranové anióny sa podieľajú na stavbe tkanív a prítomné sú aj v krvi. Podľa niektorých fyziológov nedochádza k využitiu síranových aniónov v ľudskom organizme. Sírany sa vylučujú najmä močom (Cisárik et al., 2006).

### 1.7.7 Chloridové anióny

Ľudské telo obsahuje chlór vo forme chloridových aniónov. Najkoncentrovanejšie sú v krvi, mozgomiechovom moku a iných telesných tekutinách, najmä v žalúdočnej šťave. Chloridové ióny spolupôsobia so sodnými a draselnými kationmi pri udržiavaní osmotickej a acidobázickej rovnováhy. V minerálnych vodách je zvýšený obsah chloridov skôr nevítaný, toleruje sa koncentrácia do  $50 \text{ mg.l}^{-1}$  (Cisárik et al., 2006).

Pre živočíšny organizmus sú chloridy nevyhnutnou oligobiogénnou zložkou. Podporujú trávenie aktiváciou pepsínu a usmrcujú rozličné choroboplodné zárodky. Ľahko prestupuje cez membránu erytrocytov a má významnú úlohu pri udržiavaní osmotickej a iónovej rovnováhy medzi plazmou a erytrocytmi (Poláček et al., 2005).

Limit chloridových aniónov je  $100 \text{ mg.l}^{-1}$ . Ovplyvňujú chuť vody (slanú chuť), vo vyšších koncentráciách pôsobia aj korozívne. Chlór sa vo vode môže viazať na niektoré organické zvyšky a vytvárať trihalogénmetány a tie môžu mať rakovinotvorné účinky (Korenková, 2007).

### 1.7.8 Fluoridové anióny

Fluoridy sú ako esenciálna mikrozložka súčasťou rastlinných a živočíšnych organizmov (kosti, zubná sklovina). Zlúčeniny fluóru majú veľký význam pri prevencii a liečbe zubného kazu. Nadbytok fluoridov je škodlivý. Chronická otrava fluoridovými iónmi (fluoróza) sa prejavuje útlmom tvorby krvi v kostnej dreni, nastáva porucha obličiek, zvyšuje sa krehkosť a lomivosť zubov (Poláček et al., 2005).

Fluoridy v súčinnosti s ostatnými minerálmi napomáha predchádzať osteoporóze, je zodpovedný za tvrdosť zubov a kostí ([www.korytnica.sk](http://www.korytnica.sk))

---

Fluoridy sa v najvyššej koncentrácii nachádzajú v štítnej žľaze a v mozgu. Fluoridy pôsobia na činnosť nervovej sústavy, pečene a endokrinných žliaz. V mnohých krajinách Európy sa pitná voda fluoriduje, pričom koncentrácia fluoridových iónov je nižšia než  $1 \text{ mg.l}^{-1}$ . Táto koncentrácia je tolerovaná aj pre minerálne vody (Cisárik et al., 2006).

### 1.7.9 Ďalšie ióny

*Lítne katióny* - lítium sa v ľudskom organizme nachádza v stopových množstvách. V medicíne sa využíva pri niektorých psychiatrických indikáciách, ako liečivo pri liečení migrény, pri odstraňovaní obličkových kameňov.

*Manganaté katióny* - v ľudskom organizme sa nachádza 10 - 20 mg mangánu. Nedostatok mangánu sa prejavuje oneskorením rastu, abnormálnym vývojom kostry, pomalým rastom vlasov a nechťov, neschopnosťou vstrebávať vitamín B<sub>1</sub>, depigmentáciou, dermatitídami a znížením hmotnosti. Nadbytok mangánu spôsobuje nadmerné prírastky hmotnosti, iniciuje zápal buniek v mozgovom tkanive. Koncentrácia mangánu vo vodách je väčšinou do  $20 \text{ mg.l}^{-1}$ .

*Dusitany a dusičnany* - prítomnosť dusitanov a dusičnanov je v minerálnych vodách nevítaná. Môže byť totiž znakom znečistenia minerálnej vody prímiesami. Normami je prítomnosť týchto aniónov obmedzená na hodnoty do 5, resp. do  $50 \text{ mg.l}^{-1}$ . Slovenské minerálne vody vykazujú koncentráciu hlboko pod týmito hodnotami. (Cisárik et al., 2006).

V pramenitých a minerálnych vodách sa vyskytujú aj stopové prvky ako napríklad železo (Fe), zinok (Zn), jód (I) a ďalšie, avšak tie získava naše telo v dostatočnom množstve v bežnej potrave, ktorú denne prijímame (Hrušovský, 2008).

## 1.8 Mikrobiológia minerálnych a liečivých vôd

### 1.8.1 Všeobecná charakteristika mikroorganizmov

Mikroorganizmy sú jednobunkové organizmy. Sú to tiež viacbunkové organizmy, ktoré nie sú schopné tvoriť diferencované tkanivá. Patria medzi ne vírusy, baktérie, sinice, mikroskopické huby, niektoré riasy a prvoky. Mikroorganizmy tiež predstavujú heterogénny komplex organizmov, ktoré tvoria biologicky samostatné skupiny (baktérie a huby), tiež skupiny ktoré konvergujú k rastlinám (riasy a sinice), alebo k živočíchom (prvky) (Števlíková, et al., 2006).

---

Mikroorganizmy sú odbornou verejnosťou považované za najnebezpečnejšie kontaminanty, už len z toho dôvodu, že je vysoko nepravdepodobné, že by sme sa ich mohli niekedy úplne zbaviť. Ich charakter, spôsob a rýchlosť rozmnožovania (baktérie v optimálnych podmienkach majú generačnú dobu 20 minút) a bohatý proteosyntetický aparát zaručuje pomerne vysokú variabilitu vlastností v relatívne krátkom čase a s tým i súvisiace ľahké prispôsobenie sa novým podmienkam prostredia (Demnerová et al., 2008).

Kvalita pitnej vody je obvykle vyjadrené v počte baktérií prítomných v danom objem vody (Cabral et al., 2002).

### **1.8.2 Faktory ovplyvňujúce rast mikroorganizmov**

Ako aj ostatné žijúce organizmy, všetky mikroorganizmy si vyžadujú súbor faktorov, ktoré im umožnia žiť v istom type prostredia. Tieto faktory sa odlišujú od jedného mikroorganizmu k inému. Vo všeobecnosti si baktérie vyžadujú zjavne iné prostredie ako kvasinky a tie si vyžadujú iné prostredie ako mikroskopické huby, atď. V rámci každej z týchto skupín existujú rozdiely od jedného druhu k inému. Rozličné faktory, ktoré ovplyvňujú rast mikroorganizmov v potravinách sa všeobecne označujú ako vonkajšie a vnútorné faktory. Manipulácia s týmito faktormi nám umožňuje získať produkty s dlhšou trvanlivosťou a vyššou mikrobiologickou kvalitou (Epralima, 2011).

Mikroorganizmy sú v potravinách ovplyvňované celým radom činiteľov súvisiacimi so zložením a enzymatickými procesmi v potravinách (vnútorné faktory), ale aj s technologickými procesmi, balením a skladovaním potravín (vonkajšie faktory) (Tančinová, et al. 2008).

#### **1.8.2.1 Vnútorné faktory**

Vnútorné faktory sú tie, ktoré sa spájajú s fyzikálno-chemickými charakteristikami potravín. Tieto faktory majú na mikrobiálny rast prevládajúci vplyv, pretože u väčšiny potravín prevláda vhodné prostredie pre rast mikroorganizmov. Teda obsah živín, hladina pH, pôsobenie vody a množstvo kyslíka, to všetko predstavuje vnútorné faktory, ktoré vo veľkej miere ovplyvňujú rast mikroorganizmov v potravinách (Epralima, 2011).

Medzi vnútorné faktory zaradíme:

- *vodnú aktivitu,*



- 
- *pH*,
  - *oxidoredukčný potenciál*,
  - *obsah živín*,
  - *antibakteriálne látky*,
  - *biologickú štruktúru* (Tančinová et al., 2008).

### Vodná aktivita

Voda, ktorá je nevyhnutnou zložkou bunkovej hmoty, predstavuje 75-90 % hmotnosti mikrobiálnych tiel. Všetky chemické reakcie v živej bunke prebiehajú iba vo vodnom prostredí, preto tu voda musí byť prítomná v dostatočnom množstve v kvapalnom stave. Pretože nedisociované molekuly vody môžu voľne difundovať cytoplazmatickou membránou mikroorganizmov, musí byť dostatočné množstvo vody prítomné i v prostredí, v ktorom sa bunka nachádza. V opačnom prípade by bunka stratila vnútrobunkovú vodu a možnosť metabolizmu (Kieslingerová a Bartl, 1993).

Potreba vody môže byť pri mikroorganizmoch kvantitatívne vyjadrená rozmedzím vodných aktivít prostredí, pri ktorých sa mikroorganizmy môžu rozmnožovať. Vodná aktivita ( $a_w$  – available water – dostupná voda) určitého roztoku sa rovná pomeru tlaku vodných pár nad roztokom, ku tlaku vodných pár nad destilovanou vodou za rovnakých podmienok.

$$a_w = P / P_o$$

$a_w$  - vodná aktivita

P – tlak vodných pár nad roztokom (potravinou)

$P_o$  – tlak vodných pár nad destilovanou vodou

Vodná aktivita predstavuje voľnú vodu v potravinách, ktorá je využiteľná mikroorganizmami. Voda viazaná na bielkoviny, cukry alebo soli nie je pre mikroorganizmy prístupná. Je teda zrejmé, že destilovaná voda má  $a_w = 1$  a so stúpajúcou koncentráciou rozpustených látok hodnota vodnej aktivity klesá. Hodnoty vodnej aktivity nie sú lineárne závislé od obsahu vody v produkte (od sušiny) (Adams a Moss, 2002).

Vláknité huby patria medzi organizmy schopné rasti pri  $a_w$  nižšom ako 0,90 a najviac druhov rodu *Penicillium* majú minimálne  $a_w$  medzi 0,82 a 0,86 (Nevarez et al., 2009).

Väčšina baktérií sa rozmnožuje v prostredí s  $a_w = 0,99$  až  $0,93$ . Niektoré sú schopné rozmnožovania aj pri nízkych hodnotách  $a_w = 0,65$  až  $0,63$ , napr. v prítomnosti 20 až 30 % NaCl; tieto baktérie sa nazývajú halofilné (Hudecová a Šimkovič, 2009).

Minimálna  $a_w$  kvasiniek sa pohybuje v rozmedzí  $0,91$  až  $0,88$  (je teda nižšia ako pri väčšine baktérií). Osmotolerantné kvasinky *Zygosaccharomyces rouxii* a *Zygosaccharomyces bailii* sú schopné rozmnožovania aj pri  $a_w = 0,73$  (Hudecová a Šimkovič, 2009).

### pH prostredia

Rast mikroorganizmov a ich biochemická činnosť sú silne ovplyvnené koncentráciou vodíkových iónov v prostredí. Každý mikrobiálny druh sa môže rozmnožovať iba v určitom rozmedzí pH. Pre optimálny rast väčšiny baktérií a kvasiniek je toto rozmedzie pomerne úzke, zatiaľ čo pri väčšine mikromycét je podstatne širšie. Extrémne pH môže mikroorganizmy usmrtiť (Hocking, 1998).

Mikroorganizmy rastú najčastejšie v rozmedzí pH  $2,5$  až  $9$  a optimum rastu väčšiny je medzi pH  $5$  až  $7$  (Hudecová a Šimkovič, 2009).

**Tab. 3. Hodnoty pH pre rast niektorých mikroorganizmov  
(Hudecová a Šimkovič, 2009)**

Mikroorganizmy	pH		
	Minimálne	Optimálne	Maximálne
<i>Escherichia coli</i>	4,3	6,0 – 8,0	9,5
<i>Bacillus subtilis</i>	4,5	6,0 – 7,5	8,5
<i>Clostridium botulinum</i>	4,7 – 5,0 *	6,5 – 7,2	9
<i>Lactobacillus</i> sp.	3,8 – 4,4 *	5,4 – 6,4	7,2
<i>Thiobacillus thioparus</i>	4,5	6,6 – 7,2	7,8 – 10,0 *
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	0,5	2,0 – 3,5	6
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3,0 – 3,8 *	4,2 – 5,0	7,3 – 7,5 *
<i>Aspergillus niger</i>	1,2	3,0 – 8,0	11

\*hodnoty pri rôznych kmeňoch sa vzájomne líšia

Acidofilné baktérie rastú veľmi dobre v kyslom prostredí, napr. *Thiobacillus thiooxidans*, rastie aj pri pH nižšom ako 1. Naopak alkalofilné baktérie (urobaktérie, denitrifikačné a proteolytické) rastú najlepšie v alkalickom prostredí. Optimálne pH pre

---

rast väčšiny baktérií je v neutrálnom alebo slabo alkalickom prostredí. Medzi baktérie, ktoré prežívajú extrémne hodnoty pH patria črevné baktérie (Hudecová a Šimkovič, 2009).

Kvasinky vyžadujú pre rast kyslé prostredie, optimálne pH sa pohybuje medzi 4,2 až 5,5 a už slabo alkalické prostredie (okolo pH 7,5) obyčajne zastavuje ich rast (Hudecová a Šimkovič, 2009).

Optimálna rýchlosť rastu mnohých vláknitých húb je okolo pH 5,0 a bežne rastú pri hodnote pH v rozmedzí 3,0 až 8,0. (Nevarez et al., 2009).

Niektoré sa môžu rozmnožovať v širokom rozsahu pH 1,2 až 11,0. Pri nízkom pH 0,5 až 2,0 sa rozmnožujú predovšetkým druhy produkujúce do prostredia väčšie množstvo organických kyselín (Hudecová a Šimkovič, 2009).

Hodnoty pH prostredia ovplyvňujú aj odolnosť buniek voči zvýšeným teplotám. Odolnosť voči vysokým teplotám je tým menšia, čím väčšia je odchýlka od optimálneho pH. Kyslé pH prostredia bráni klíčeniu bakteriálnych endospór a ich premene na vegetatívnu formu (Hudecová a Šimkovič, 2009).

#### Oxidoredukčný potenciál

Každé prostredie vykazuje určitý oxidoredukčný (oxidačne redukčný, redoxný) potenciál, ktorý je daný prítomnosťou oxidačných alebo redukčných činidiel. K oxidačným činidlám patria kyslík, dusičnany, železité ióny, peroxidy, k redukujúcim činidlám patria železnaté ióny, vodík, zlúčeniny so sulfhydrilovou skupinou alebo s aktívnym dvojitými väzbami (Hudecová a Šimkovič, 2009).

Oxidoredukčný potenciál prostredia –  $E_h$  vyjadrujeme ako rozdiel potenciálu medzi platinovou elektródou umiestnenou do daného prostredia a normálnou vodíkovou elektródou. Silne oxidačné látky vytvárajú pozitívny oxidoredukčný potenciál, zatiaľ čo redukujúce látky vedú k negatívnemu potenciálu (Adams a Moss, 2002).

Podľa vzťahu k prítomnému kyslíku alebo jeho absencie sa rozlišujú MO aeróbne (vyžadujúce k svojmu metabolizmu kyslík), a MO fakultatívne alebo striktne anaeróbne (ktoré kyslík nepotrebujú, resp: u striktne anaeróbných pôsobí kyslík aj toxicky). Fakultatívne anaeróbne baktérie sú baktérie metabolizujúce v aeróbnych podmienkach, v neprítomnosti kyslíka však menia svoj metabolizmus na anaeróbny (Malý a Malá, 2006).

---

Fakultatívne anaeróbne baktérie môžu byť citlivejšie voči reaktívnym formám kyslíka ako sú obligátne aeróbne baktérie, pretože majú menej rozvinuté obranné mechanizmy (Roslev et al., 2004).

Mikroorganizmy majú rôzne požiadavky na kyslík a preto vyžadujú aj rôzny oxidoredukčný potenciál prostredia. Aeróbne mikroorganizmy si vyžadujú prítomnosť rozpusteného kyslíka a teda pozitívny oxidoredukčný potenciál. Naopak, na anaeróbne mikroorganizmy pôsobí kyslík a pozitívny oxidoredukčný potenciál negatívne, často s letálnym účinkom (Hudecová a Šimkovič, 2009).

### Výživa mikroorganizmov

Živiny z prostredia musia pokrývať všetky požiadavky mikroorganizmov na energiu pri syntéze bunkovej hmoty. Okrem zdrojov energie musí prostredie obsahovať asimilovateľné zdroje biogénnych prvkov, ktoré sú súčasťou bunkovej hmoty mikroorganizmov. Najväčšie požiadavky sú kladené na C, H, N, P a S, z kationov na  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Co^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$  a  $Zn^{2+}$ . Niektoré anióny sú potrebné vo veľmi nízkych koncentráciách. Živé prostredie musí obsahovať dostatočné množstvo vody, lebo všetky reakcie prebiehajúce v živých organizmoch vyžadujú vodné prostredie. V prostredí je potrebné zachovať určitú koncentráciu jednotlivých kationov a aniónov (Hudecová a Šimkovič, 2009).

Na zabezpečenie výživy autotrofných mikroorganizmov postačujú vhodné anorganické zlúčeniny. Heterotrofné mikroorganizmy vyžadujú popri anorganických zlúčeninách, prítomnosť organických zlúčenín ako zdrojov uhlíka, vodíka alebo energie (kvasinky, vláknité huby, väčšina baktérií). Heterotrofné mikroorganizmy rozdeľujeme na prototrofné, ktorým postačujú jednoduché organické uhlíkaté zlúčeniny (sacharidy, etanol, jednoduché organické kyseliny...), spolu s anorganickými soľami ako zdrojmi biogénnych prvkov a na auxotrofné (lat. auxilium – pomoc), ktoré okrem toho vyžadujú zložité organické zlúčeniny (tzv. rastové faktory), väčšinou ide o niektoré vitamíny, dusíkaté bázy alebo aminokyseliny (Hudecová a Šimkovič, 2009).

Väčší alebo menší obsah bielkovín, cukrov alebo iných živín určuje, ktorý typ mikroorganizmov bude prevládať v danej potravine. Prítomnosť vitamínov, aminokyselín, atď umožňuje rast náročnejším organizmom. Vo všeobecnosti sú mikroskopické huby najmenej náročné, čo sa týka živín a za nimi nasledujú kvasinky a tak baktérie (Epralima, 2011).

---

### 1.8.2.2 Vonkajšie faktory

Medzi vonkajšie faktory patria:

- *teplota*,
- *relatívna vlhkosť*,
- *prítomnosť a koncentrácia plynov* (Tančinová et al., 2008).

#### Teplota

Teplota vonkajšieho prostredia je jedným z hlavných faktorov, ktoré ovplyvňujú rýchlosť rozmnožovania mikroorganizmov ako aj možnosti ich života (Hudecová a Šimkovič, 2009).

Určenie výrobnnej alebo skladovacej teploty môže predstavovať účinnú ochranu potravín za predpokladu znalostí rastových rozsahov mikroorganizmov. Pri každom druhu mikroorganizmov rozoznávame tri základné body teploty (Horník, 1996).

- *minimálna teplota*: najnižšia teplota, pri ktorej sa daný druh rozmnožuje ešte zistiteľnou rýchlosťou,
- *optimálna teplota*: pri ktorej sa rozmnožuje najväčšou rýchlosťou, optimálna teplota je obyčajne asi o 30 °C vyššia ako minimálna
- *maximálna teplota*: najvyššia teplota, pri ktorej je ešte schopný sa rozmnožovať. Maximálna teplota prevyšuje iba o 5 až 10 °C optimálnu teplotu rastu určitého mikroorganizmu (Hudecová a Šimkovič, 2009).

Podľa vzťahu k teplote rozdeľujeme mikroorganizmy do troch základných skupín:

- 1) *psychrofilné mikroorganizmy* – majú optimálnu teplotu rastu nižšiu ako 20 °C a rozmnožujú sa ešte pomerne intenzívne aj pri teplote 0 až 5 °C. Niektoré baktérie žijú aj v oblastiach večného ľadu, v jazierkach s vysokým obsahom solí, kde voda nezamrzá ani pri - 24 °C. Niektoré vláknité huby sú schopné pomalého rastu ešte pri teplotách -10 °C. Dôležité sú tiež tzv. *psychrotrofné mikroorganizmy*, t. j. tie, ktoré sa rozmnožujú pomerne rýchlo aj pri teplotách 0 až +10 °C bez ohľadu na ich optimálnu teplotu rastu (*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* a iné). Teploty nižšie ako minimálna teplota rastu prežíva väčšina mikroorganizmov pomerne dlhý čas (Hudecová a Šimkovič, 2009).

- 
- 2) *mezofilné mikroorganizmy* - majú minimálnu teplotu vyššiu ako 5 °C a optimálnu teplotu nižšiu ako 45 °C (patrí sem prevažná väčšina mikroorganizmov). Pri baktériách sa optimálna teplota pohybuje najčastejšie okolo 37 °C, pri kvasinkách a vláknitých hubách okolo 25 až 30 °C. Medzi mezofilnú mikroflóru sa zaraďujú všetky patogénne mikroorganizmy (Hudecová a Šimkovič, 2009).
- 3) *termofilné mikroorganizmy* – majú optimálnu teplotu rastu vyššiu ako 45 °C, na rast väčšiny z nich je optimálna teplota 50 až 60 °C, niektoré môžu rásť pri 80 °C. V horúcich minerálnych prameňoch žijú niektoré cyanobaktérie pri teplotách okolo 90 °C. Termofilné baktérie majú svojich zástupcov napr. v rodoch *Bacillus* (*B. stearothermophilus*), *Clostridium* (*C. thermosaccharolyticum*), *Lactobacillus* (*L. delbrueckii* ssp. *delbrueckii*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*), medzi aktinomycétami a archaebaktériami (*Thermoactinomyces*, *Thermomonospora*). Vyznačujú sa mimoriadne vysokou metabolickou aktivitou a rýchlosťou rastu pri optimálnej teplote (Hudecová a Šimkovič, 2009).

#### Relatívna vlhkosť

Vysoká relatívna vlhkosť napomáha rastu mikroorganizmov na povrchoch. Aj dnes sa používajú metódy dehydratácie a sušenia, ktoré slúžia na uchovávanie potravín. Avšak potraviny sa musia skladovať pri nízkej vlhkosti, inak by vlhkosť prítomná v prostredí zvýšila množstvo vody v potravinách a teda by zvýšila riziko rozširovania mikroorganizmov. (Epralima, 2011).

Pri mikroskopických hubách je možná tvorba konídionosičov a spórangionosičov pri relatívnej vlhkosti 95 – 100 % (Tančinová a Labuda, 2009).

### **1.8.3 Zákonitosti rastu mikroorganizmov**

Dôležitým faktorom biochemických premien prebiehajúcich v prírode sú mikroorganizmy, predovšetkým baktérie. Jednobunkové organizmy sa množia delením, čo znamená, že po určitej rastovej dobe - generačná doba, sa MO rozdelia na dva samostatné jedince. Generačná doba je v jednotlivých prípadoch odlišná (Malý, Malá, 2006).

---

Rast MO je najlepšie pozorovateľný v jednorazových postupoch, pri ktorých je do roztoku substrátu, pridávané určité množstvo baktérii (inokulum), ktoré substrát svojimi metabolickými procesmi rozkladajú.

Rastovú krivku MO môžeme rozlíšiť na niekoľko fáz:

- lag fáza: rýchlosť rastu je nulová, MO sa adaptujú na prostredie. Dĺžka tejto fázy závisí od fyziologického stavu MO a na prostredí.
- Fáza zrýchleného rastu: rýchlosť rastu sa zväčšuje
- fáza exponenciálneho rastu: rýchlosť rastu je za daných podmienok pri dostatočnej koncentrácii substrátu konštantná, pokiaľ sa koncentrácia substrátu nestáva limitujúcim faktorom
- fáza spomaleného rastu: rýchlosť rastu klesá, limitujúcim faktorom sa stáva koncentrácia substrátu.
- Fáza stacionárna: rast sa zastavuje, pretože substrát je vyčerpaný. Baktérie prípadne rozkladajú zásobné látky (endogénna respirácia), ich počet sa nezmenšuje, hmotnosť však klesá.
- Fáza poklesu: MO odumierajú a ich počet sa znižuje (Malý a Malá, 2006).

#### **1.8.4 Požiadavky na mikrobiologickú kvalitu minerálnych vôd**

O mikrobiologickú kvalitu minerálnej vody je veľký záujem, pretože ju mnohí spotrebitelia používajú ako alternatívu k vode z vodovodu a tiež ju považujú za lepšiu a bezpečnejšiu. V rámci EÚ sa uvádzanie prírodných vôd na trh riadi smernicou Rady (Ramalho et al., 2001).

Mnoho, ak nie aj väčšina ľudí verí, že balená voda je lepšia ako voda z prameňa v tom, že neobsahuje žiadne mikroorganizmy. Toto však nie je pravda, pretože minerálne vody obsahujú charakteristickú bakteriálnu flóru (Rosenberg, 2003).

Pri stanovení mikrobiálneho rizika potravín hrá veľkú úlohu množstvo mikroorganizmov (infekčná dávka), a či bola potraviná vystavená iba expozícii mikroorganizmov z jedného alebo viac zdrojov. Väčšina patogénov vyskytujúcich sa v potravinách je schopná vyvolať ochorenie ľudí. (Demnerová et al., 2008).

Vyhláškou MZ SR č. 100/2006 zo 6. februára 2006 sa stanovujú požiadavky na mikrobiologickú analýzu minerálnych a liečivých vôd. Sú to:

- a) zistenie patogénnych mikroorganizmov,
- b) zistenie koliformných baktérií KTJ v 250 ml vzorky,

- 
- c) počet enterokokov KTJ v 250 ml vzorky,
  - d) počet *Escherichia coli* v 250 ml vzorky,
  - e) počet anaeróbných sporulujúcich baktérií redukujúcich siričitany KTJ v 50 ml vzorky,
  - f) celkový počet *Pseudomonas aeruginosa* KTJ v 250 ml vzorky,
  - g) celkový počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 36 °C v 1 ml vzorky,
  - h) celkový počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 22 °C v 1 ml vzorky
  - i) celkový počet mikroskopických húb – mikromycét v 1 ml vzorky,
  - j) počet živých organizmov (počet jedincov) v 1 ml vzorky,
  - k) počet mŕtvych organizmov (počet jedincov) v 1 ml vzorky.

#### 1.8.4.1 Baktérie

Množstvo baktérií v komerčne dostupných minerálnych vodách je vo všeobecnosti závislé na továrenských procesoch dezinfekcie prírodnej vody získanej z prameňa (Zamberlan Da Silva et al., 2008).

Celková bakteriálna prítomnosť vo vode je charakterizovaná psychrofilnými a mezofilnými baktériami líšiacimi sa teplotou kultivácie, ktorá je pri psychrofilných 20 °C, pre mezofilné 37 °C (Malý a Malá, 2006).

Okrem autochtónnych prirodzených baktérií zo žiadnym rizikom pre verejné zdravie, môže minerálna voda vo fľaši obsahovať aj patogénne kontaminanty (Ramalho et al., 2001).

Niektorí autori uvádzajú, že vysoké počty baktérií autochtónnej mikrobiálnej flóry vo vodnom prostredí môže mať vplyv na ľudské zdravie verejnosti (Messi et al., 2005).

Baktérie sú z hygienického hľadiska väčšinou neškodné a naopak pre udržanie života vyšších organizmov sú nevyhnutné. Vysoká koncentrácia vo vode, a to platí predovšetkým pre mezofilné baktérie, indikuje nebezpečie kontaminácie patogénmi (Malý a Malá, 2006).

**Koliformné baktérie:** detekcia mikrobiálnych kontaminantov fekálneho pôvodu je hlavnou prioritou v oblasti kontroly kvality pitnej vody. Prítomnosť fekálnej kontaminácie sa najčastejšie hodnotí pomocou členov skupiny koliformných baktérií (Roslev et al., 2004).



---

Pozornosť mikrobiológov bola dlhé obdobie zameraná výhradne na sledovanie koliformných baktérii, ktoré boli považované za jeden z najzávažnejších indikátorov hygienickej kvality vody. (Javoreková, 2004).

Koliformné organizmy sú ľahko detekovateľné a vypočítavateľné vo vode. Hoci koliformné organizmy nemusia vždy priamo súvisieť s prítomnosťou fekálneho znečistenia, prítomnosť koliformných baktérií v pitnej vode naznačuje potenciálnu prítomnosť patogénnych črevných mikroorganizmov, ako sú *Salmonella* spp., *Shigella* spp. a *Vibrio cholerae* (Zamberlan Da Silva et al., 2008).

Za indikátory fekálneho znečistenia sú považované koliformné baktérie (gramnegatívne paličky) patriace do čeľade *Enterobacteriaceae* (Malý, Malá, 2006).

Netvorí spóry, sú schopné rásť za prítomnosti žľčových kyselín alebo iných povrchovo aktívnych látok s podobnými rast inhibujúcimi vlastnosťami a fermentovať laktózu pri teplote 35-37 °C s produkciou kyseliny, plynu a aldehydu, počas 24-48 hodín. Reakciu na cytochrómoxidázu majú negatívnu a vykazujú β-galaktózidázovú aktivitu (Javoreková, 2004).

Sú to paličkovité MO, ktoré rastú aeróbne alebo fakultatívne anaeróbne v prítomnosti žľčových kyselín (Accolas et al., 1999).

Sú to tiež laktózo-pozitívne oxidázo-negatívne baktérie, ktoré sa na a v použitých živných pôdach správajú podobne ako druh *Escherichia coli* a jeho biotopy, ďalej *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* ako aj členovia rodov *Citrobacter* a *Klebsiella* (Görner a Valík, 2004).

Vyskytujú sa vo fekáliách človeka i teplokrvných živočíchov, vo vode bohatej na živiny, pôde i v rozkladajúcom sa rastlinnom materiáli. Nie všetky druhy týchto rodov možno do skupiny koliformných baktérii zahrnúť (napr. *Escherichia fergusonii*, *E. hermanii*, *Enterobacter taylorae* a iné). Skupina koliformných baktérii môže zahŕňať i druhy zriedka sa vyskytujúce vo fekáliách (*Serratia fonticola*, *Rahnella aquatilis*, *Buttiauxella agrestis*), ktoré sa však môžu i v relatívne kvalitnej pitnej vode dostatočne pomnožiť. Najvýznamnejším zástupcom v skupine koliformných baktérii je *Escherichia coli* (Javoreková, 2004).

Základnými vlastnosťami týchto koliformných baktérií z hľadiska ich zistenia a stanovenia na polotuhých médiách je fermentácia laktózy za tvorby kyselín a prechodných metabolitov a v tekutých médiách tvorba plynov a kyselín (Görner a Valík, 2004).

---

Sú predovšetkým indikátorom účinnosti dezinfekcie pri úprave vody a možnej kontaminácie pri jej distribúcii (Javoreková, 2004).

Prítomnosť *Escherichia coli* vo vode je takmer vždy spojený s nedávnym fekálnym znečistením a je preto preferovaným ukazovateľom mikroorganizmov na tento účel (Zamberlan Da Silva et al., 2008).

Takto môže práve prítomnosť *Escherichia coli* vo vzorkách vody naznačovať možné fekálne znečistenie zdroja minerálnej a liečivej vody. *Escherichia coli* nie je považovaná za vysoko konkurenčný mikroorganizmus v oligotrofných vodných ekosystémoch (Lee et al., 2010).

Nepřítomnosťou kyslíka možno výrazne predĺžiť prežitie črevných mikroorganizmov v minerálnej vode. Zistenia naznačujú, že nerovnosti na potrubí privádzajúcom minerálnu vodu, obsahujúce anaeróbne alebo mikroaerofilné baktérie, môžu predstavovať potenciálne rezervoáry pre patogény fekálneho pôvodu (Roslev et al., 2004).

**Enterokoky** (predtým črevné streptokoky) sú považované za ukazovatele čerstvého fekálneho znečistenia, vo vode vydržia iba 2-5 dní, na rozdiel od koliformných baktérii, ktoré majú významne dlhšiu dĺžku prežitia. Nie všetci zástupcovia vyššie uvedených bakteriálnych skupín sú patogénny, ale svojou prítomnosťou možnosť ich výskytu indikujú. Počet bakteriálnych jedincov v určitom objeme vody sa zistia kultiváciou na živnom médiu a sa vyjadruje ako počet jedincov tvoriacich jednotku (KTJ) (Malý, Malá, 2006).

***Pseudomonas aeruginosa***: je oportúnny patogén, ktorý je známy tým, že je príčinou infekcie močových ciest, infekcie dýchacích ciest, zápalu kože, mäkkých tkanív a rôznych systémových infekcií, a to najmä u pacientov, ktorí majú často napádaný imunitný systém a to najmä ľudia s katétami, otvorenými ranami alebo cystickou fibrózou. Ohniská ochorení spôsobené týmto organizmom boli hlásené z rôznych prostredí. Tieto kmene sa môžu šíriť na rukách zdravotníckych pracovníkov, alebo enviromentálnymi cestami ako sú znečistené vody. Zvláštnosťou *Pseudomonas aeruginosa* je jeho schopnosť rastu vo vodách s nízkym obsahom živín. Okrem toho, že je primárnou príčinou ochorení, *Pseudomonas aeruginosa* je často sledovaný ako indikátor iných bakteriálnych kontaminácií (Zamberlan Da Silva et al., 2008).

---

Prítomnosť *Pseudomonas aeruginosa* v minerálnej vode sa vysvetľuje kontamináciou počas balenia, alebo znečistením zdroja organickým materiálom (Venieri et al., 2006).

Aj keď počet týchto baktérií pri zdroji je všeobecne veľmi nízky, počty mikroorganizmov sa rýchlo zvyšujú po plnení do fliaš a môžu zostať relatívne konštantné po dobu aspoň 6 mesiacov (Messi et al., 2005).

Je rozšírený v prírodných a priemyselných prostredia a je schopný rásť vo vode. Vyšetrenie pitnej vody pre *Pseudomonas aeruginosa* sa neodporúča len ako rutinný postup, ale aj ako ukazovateľ správnych výrobných procesov a vhodnosti balenej vody na pitie (Ramalho et al., 2002).

Určitý kolonizátori z vodného prostredia, ako je napríklad *Pseudomonas spp.*, majú výrazné schopnosti pre získavanie a šírenie rezistentných génov. Kmene patriace do tohto rodu, najviac zastúpená v balených a minerálnych vodách, sú v skutočnosti často rezistentné k niekoľkým antimikrobiálnym látkam (Messi et al., 2005).

**Aktinomycéty:** sú vláknité baktérie, ktoré osídľujú najmä pôdu, ale nachádzajú sa aj v akvatických ekosystémoch. Premnoženie aktinomycét vo vodnom prostredí má za následok zhoršenie organoleptických vlastností vôd, nakoľko v období sporulácie aktinomycéty produkujú látky napr. fenoly a aldehydy, ktoré silne zapáchajú. Zemitý zápach spôsobuje produkcia geosmínu a 2-metylisoborneolu (MIB). Neprijemná chuť a zápach vody sa veľmi ťažko odstraňujú a napr. chlórovaním môžu vznikáť rôzne chlórderiváty, ktoré kvalitu vody ešte zhoršujú. Väčšina aktinomycét, ktoré sa nachádzajú vo vode sú saprofytické. V našej zemepisnej šírke sa najčastejšie vyskytujú druhy rodov *Streptomyces* a *Nocardia*. Aktinomycéty sú odporúčaným indikátorom kvality pitnej i povrchovej vody (Javoreková, 2004).

#### 1.8.4.2 Mikroskopické huby

Patria do skupiny organizmov s eukaryotickou bunkou. Sú to jednobunkové (kvasinky) až mnohobunkové organizmy (mikroskopické huby). Mikroskopické huby sú chemoorganotrofné a ako zdroj uhlíka a energie využívajú organické látky. Tvoria tak samostatnú ríšu – *Fungi*. Podľa spôsobu výživy rozlišujeme tieto druhy húb:

- *saprofytické huby* – ako zdroj uhlíka využívajú odumreté organické substráty,
- *fakultatívne parazity* – žijú ako saprofyty, no v určitých podmienkach môžu žiť

---

aj paraziticky,

- *obligátne parazity* – saproparazity, majú vo svojom vývinovom cykle fázu parazitickú aj saprofytickú,
- *symbionty* – mykoríza – spolužitie húb a koreňov vyšších rastlín,
- *lichenizmus* – tesné spolužitie húb s riasou alebo sinicou,
- *huby dravce* – žijú v pôde a majú vzťah k háďatkám, lovia ich do pascí, ktoré tvoria, využívajú z nich hlavne bielkoviny. (Kačániová et al. 2007).

Mikroskopické huby a kvasinky obsahujú viacero vnútorných štruktúr, ako: jadro, cytoplazmatická membrána, endoplazmatické retikulum, ribozómy, Golgiho aparát, mitochondrie, lyzozómy, plastidy, vakuoly a povrchové štruktúry (Števlíková et al., 2006).

Bez ohľadu na to, že vláknité mikroskopické huby vo vode nevytvárajú obyčajne žiadne potenciálne nebezpečenstvo pre zdravie verejnosti, a to najmä preto že nie sú ľudské patogény, môžu existovať druhy, ktoré spôsobujú u ľudí ochorenia. Jedným z mechanizmov tvorby hubových ochorení je produkcia mykotoxínov (Criado et al., 2005).

Tieto metabolity sú veľmi jedovaté a môžu vyvolať tvorbu nádoru. Niektoré z húb, ktoré boli izolované z minerálnej vody, majú určitý toxinogénny potenciál. Našťastie, prítomnosť spór alebo dokonca rast niektorých húb nie vždy znamená produkciu toxínov. Podmienky, ktoré umožňujú produkciu toxínu, sú obmedzenejšie ako tie, ktoré dávajú cestu k rastu (Criado et al., 2005).

Mykotoxíny sú toxické metabolity mnohých druhov vláknitých mikroskopických húb. Vyvolávajú rôzne toxické syndrómy súhrnne nazývané *mykotoxikózy*. Producentov mykotoxínov zaradujeme predovšetkým do troch rodov: *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*. Jeden konkrétny mykotoxín môže byť produkovaný rôznymi druhmi mikroskopických húb a jeden konkrétny druh mikroskopickej huby môže produkovať rôzne mykotoxíny. Hlavné účinky mykotoxínov v organizme:

- *hepatotoxické*: aflatoxíny, sterigmatocystín, kyselina cyklopiazónová, patulín, trichotecény,
- *nefrotoxické*: ochratoxíny, citrinín
- *kardiotoxické*: citreoviridín, kyselina cyklopiazónová, T-2 toxín
- *neurotoxické*: trichothecény, citreoviridín,
- *gastroenterotoxické*: deoxynivalenol
- *hemoragické*: trichothecény

- 
- *estrogénne*: zearalenon,
  - *mutagénne a karcinogénne* – aflatoxíny, sterigmatocystín, fumonizíny, ochratoxíny, patulín, kyselina cyklopiazónová, luteoskyrín, kyselina penicilová,
  - *teratogénne a imunotoxické* (Tančinová et al., 2008).

Z praktického hľadiska sa mikroskopické huby tradične rozdeľujú na dve základné skupiny: **kvasinky** a **vláknité mikroskopické huby** (mikromycéty), ktoré sa laicky nazývajú plesne. (Tančinová et al., 2008).

**Vláknité mikroskopické huby** (mikromycéty) sú značne rozšírené v životnom prostredí a zodpovedné za početné kazenie potravín. Okrem hospodárskej straty spojenej s ich vzhľadom, ďalším problémom je možnosť produkcie mykotoxínov. Najrozšírenejšie a časté kazenie potravinárskych výrobkov sú spôsobené niekoľkými rodmi, ako sú *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium*. Rast vláknitých mikroskopických húb je ovplyvnený rôznymi životnými prostrediami alebo vnútornými faktormi (Nevarez et al., 2009).

Vyskytujú sa aj v prostredí s vysokým obsahom solí. Význam v prostredí je daných ich fyziologickými vlastnosťami. Prevažne majú aeróbny spôsob života spolu so širokým enzýmovým vybavením. Sú adaptabilné na pomerne nízke teploty a tiež nízke hodnoty pH. Spóry mikroskopických húb môžu dlho prežívať i v takom prostredí, kde nie sú podmienky na rast a rozmnožovanie týchto organizmov (Javoreková, 2004).

Všeobecne platí, že huby sú schopné rásť v širokom rozsahu teplôt, čo je dôležité pre ich morfogénu a klíčenie, ale nie je to pre ne somatická požiadavka (Criado et al., 2005).

Nežiadúca je prítomnosť najmä tých druhov, ktoré predstavujú určité zdravotné riziko. Môžu sa zachytiť najmä v spojových častiach na tesnení, ktoré vedia obyčajne využívať ako substrát, pomnožujú sa a okrem upchávania vodovodného potrubia sa môžu dostať k užívateľovi v takom množstve, že sú schopné vyvolávať ochorenie. V pitných vodách sa u nás najviac vyskytujú mikromycéty rodov *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Fusarium* a ďalšie, ktoré sú anamorfnými štádiami askomycét, a to *Neosartorya*, *Byssochlamys*, *Talaromyces*, *Eupenicillium*, *Nectria* a *Giberella*, medzi ktorými sa vyskytujú i tzv. termorezistentné mikromycéty (Javoreková, 2004).

---

Prítomnosť mikroskopických húb vo vodných zdrojoch môže prispieť k degradácii zložitých prírodných a antropogénnych látok, vzhľadom na ich široké enzymatické schopnosti (Pereira et al., 2010).

Hoci vláknité huby vo vode obyčajne nepredstavujú žiadne potenciálne problémy verejného zdravia, niektoré z húb izolovaných z minerálnych vôd, majú toxický potenciál a môžu predstavovať určité zdravotné riziko (Cabral et al., 2002).

Aj keď neexistuje žiadny dôkaz, že vodné mikroskopické huby sú zapojené do vzniku chorôb, môže ich výskyt vo vode byť spojený s problémami chuti a zápachu, podráždením kože a alergickými reakciami, rovnako ako zvýšený výskyt oportúnnych celkových mykóz u pacientov s poškodenou imunitou (Pereira et al., 2010).

### **Kvasinky**

*Rod Saccharomyces*: patrí medzi technologicky najdôležitejšie rody. Druhy tohto rodu sú schopné skvasovať väčšinou niekoľko druhov sacharidov. Nepohlavne sa rozmnožujú multipolárnym pučaním, pohlavne askospórami. Najdôležitejším druhom je *Saccharomyces cerevisiae*, ktorý sa uplatňuje ako pekárska, liehovarnícka, a vrchná pivovarnícka kvasinka.

*Rod Zygosaccharomyces*: druhy tohto rodu väčšinou rastú dobre aj na pôdach obsahujúcich 50 % glukózy (sú osmotolerantné). *Zygosaccharomyces bailii* toleruje pomerne vysoké koncentrácie etanolu a SO<sub>2</sub> a je pomerne odolný i k ostatným konzervačným prostriedkom.

*Rod Kluyveromyces*: skvasujú laktózu a jej druhy sa líšia tvarom spór.

*Rod Pichia*: patrí medzi rody z nízkymi kvasnými schopnosťami, lebo jeho druhy skvasujú buď len glukózu, alebo cukry neskvasujú vôbec.

*Rod Hansenula*: blankotvorné druhy, využívajú NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ako zdroj dusíka.

*Rod Schizosaccharomyces*: rozmnožuje sa pričným delením, vyznačuje sa dobrými kvasnými schopnosťami.

*Rod Candida*: zahŕňa druhy i rody so značnými kvasnými schopnosťami. Zaradíme sem aj patogénne druhy napr. *Candida albicans*, ktorá môže spôsobovať ochorenia (kandidózy) kože, nechtov.

*Rod Klueckera*: je odolný voči veľmi kyslému prostrediu, skvasuje glukózu.

*Rod Geotrichum*: tvorí prechod medzi kvasinkami a vláknitými mikroskopickými hubami. Substráty neskvasuje. Najznámejší druh *Geotrichum*

---

*candidum* tvorí bohaté mycélium, kolónie sú biele zamatové až vatovité, tvorí arthrospóry (Tančinová et al., 2008).

Je dokázané, že počet kvasiniek môže byť indikátorom znečistenia povrchových vôd. Zistilo sa, že čisté vody obsahujú oveľa menej kvasiniek ako vody znečistené (Javoreková, 2004).

## **1.9 Účinky a charakteristika sledovaných značiek prírodných minerálnych a liečivých vôd na našom trhu**

### **1.9.1 Účinky a charakteristika prírodných minerálnych vôd stolových na našom trhu**

#### **Baldovská**

Klasifikácia: prírodná minerálna voda, stredne mineralizovaná, uhličitá, hydrogénuhličitanová, vápenato-horečnatá, so zvýšeným obsahom horčíka, slabo kyslá, studená, hypotonická.

Účinky: pomáha pri niektorých ochoreniach tráviaceho traktu, choroby žlčníka, osteoporóza, Je vhodná na choroby chrbtice a pri rekonvalescenciu. Podporuje trávenie. Je lahodná a osviežujúca, dodáva organizmu potrebné minerálne látky v optimálnom pomere. Napomáha uvoľňovať z tela škodlivé a nadbytočné látky, čím osviežuje telo i myseľ a dodáva im potrebnú sviežosť pre každodenný život. Ošetrená ozonizáciou a UV žiarením.

Zdroj: BV-1 v Baldovciach. Výrobca: spoločnosť Minerálne vody a.s. Prešov, závod Baldovce ([www.baldovska.sk](http://www.baldovska.sk)).

#### **Budiš**

Klasifikácia: prírodná minerálna voda stredne mineralizovaná, hydrogénuhličitanovo-síranová minerálna, horečnatá, sodno-vápenatá, uhličitá, studená, hypotonická, slabo kyslá až neutrálna prírodná minerálna voda.

Účinky: má priaznivé účinky na tráviaci trakt, dýchací systém, činnosť obličiek; dopĺňa dennú potrebu vápnika, obsahuje však viac ako 1,5 mg.l<sup>-1</sup> fluoridov a nie je vhodná na pravidelnú konzumáciu pre dojčatá a deti.

Zdroj: B-3, B-4, B-5 a B-6 v obci Budiš. Výrobca: Slovenské pramene a žriedla, a. s. prevádzka Budiš ([www.budis.sk](http://www.budis.sk)).

---

## **Čerínska**

Klasifikácia: minerálna voda prírodná, slabo mineralizovaná, hydrogénuhličitanová, vápenato-horečnatá, uhličitá, hypotonická a studená.

Účinky: je vhodná pre ľudí so srdcovo-cievnyimi ochoreniami (vďaka nízkemu obsahu sodíka), protialergická, protizápalová pri vonkajšom použití. Pravidelné pitie pôsobí osviežujúcim a blahodárnym účinkom na celý ľudský organizmus. Je odželeznená a sýtená.

Zdroj: vrt ČAM – 1 pri Banskej Bystrici. Výrobca: Čerínska minerálka s. r. o. ([www.cerinska.sk](http://www.cerinska.sk))

## **Kláštorná**

Klasifikácia: prírodná minerálna voda, hydrogénuhličitanová, hypotonická, vápenato-horečnatá, uhličitá.

Účinky: je vzhľadom na svoje zloženie vhodná ako súčasť pitného režimu pri fyzickom zaťažení a športových výkonoch, ako aj pri chronických žalúdočných a črevných chorobách, pri zápalových ochoreniach močových ciest, pri cukrovke, dne a pri zápalových a alergických ochoreniach dýchacích ciest. Kvalita vody je zaručená nízkym obsahom sodíka a zvýšeným obsahom horčička. Je odželeznená, upravená UV filtrom.

Zdroj: KM-1 v Kláštore pod Znievom. Výrobca: Toplimo a. s. Topoľčany ([www.klastorna.sk](http://www.klastorna.sk)).

## **Lubovnianska**

Klasifikácia: prírodná minerálna voda, stredne mineralizovaná, hydrogénuhličitanová, horečnato-vápenato-sodná, slabo kyslá.

Účinky: svojím špecifickým zložením je vhodná pri chorobách žalúdka, čriev, obličiek, pečene, močových ciest; ale pomáha aj pri niektoré gynekologických a nervových chorobách.

Zdroj: LZ-6 Veronika, Výrobca: Prvá kúpeľná a.s. (<http://limo.lubovna.sk>)

## **Mitická**

Klasifikácia: prírodná minerálna voda, stredne mineralizovaná, hydrogénuhličitanová, vápenato-horečnatá, slabo kyslá, studená, uhličitá, hypotonická.



---

Účinky: svojím zložením sa hodí pri poruchách zažívacieho traktu a pri zápalových ochoreniach močových ciest. Je vhodná na denné doplnenie vápnika a horčíka. Používa sa aj pri kardiovaskulárnych ochoreniach pre svoj nízky obsah sodíka. Jej obsah vápnika priaznivo pôsobí proti osteoporóze, avšak pomer vápnika a horčíka nezvyšuje riziko tvorby kalciových a močových kameňov. Je upravovaná ozónom

Zdroj: MP – 1, Trenčianske Múčky. Výrobca: Trenčianske minerálne vody a.s., závod Trenčianske Múčky (www.miticka.com).

### **Salvator**

Klasifikácia: prírodná, stredne mineralizovaná prírodná minerálna voda, hydrogénuhličitanová, vápenato-horečnatá, sírna kyselka, so zvýšeným obsahom vápnika, sodíka a horčíka.

Účinky: táto minerálna voda je účinná pri chorobách tráviaceho traktu, je taktiež bohatá na železo, pomáha pri poruchách látkovej výmeny, pri cukrovke, tiež pri náchylnosti k tvorbe kamienkov v močových cestách.

Zdroj: S-2 v Lipovciach. Výrobca: Minerálne vody a.s., závod Salvator (www.baldovska.sk).

### **Slatina**

Klasifikácia: prírodná minerálna voda, stredne mineralizovaná, hydrogén–uhličitanovo–chloridová, sódno–vápenatá.

Účinky: Minerálna voda pôsobí priaznivo pri niektorých žalúdočných a črevných chorobách, diabete, dne, pri kataroch horných dýchacích ciest. Podporuje trávenie a je dosýtená oxidom uhličitým.

Zdroj: BB-2 v Slatine. Výrobca: Západoslovenské žriedla a.s., závod Slatina. (www.slatina.sk).

## **1.9.2 Účinky a charakteristika prírodných liečivých minerálnych vôd na našom trhu**

### **Fatra liečivá**

Klasifikácia: Prírodná liečivá voda – vysoko mineralizovaná, uhličitá, hydrogénuhličitanovo-sodná, so zvýšeným obsahom hydrogénuhličitanov. Je upravovaná len sýtením CO<sub>2</sub>.

---

Účinky: Prírodná liečivá voda priaznivo pôsobí pri vredovej chorobe žalúdka a dvanástorníka, cukrovke, dne, neurózach a ako prevencia tvorby cystínových a oxalátových kamienkov v močových cestách. Vhodná na inhalácie a výplachy horných dýchacích ciest. Denné množstvo: ak lekár neodporúča inak, 3x denne, 20 – 30 min. pred jedlom 200 až 250 ml izbovej teploty alebo zohriatia na teplotu tela. Liečebná kúra 4 – 6 týždňov.

Zdroj: BJ-4 Martin-Záturečie. Výrobca: Slovenské pramene a žriedla, prevádzka Fatra ([www.budis.sk](http://www.budis.sk))

### **Korytnica liečivá**

Klasifikácia: prírodná liečivá minerálna voda, stredne mineralizovaná, síranovo - hydrogénuhličitanová, vápenato – horečnatá, uhličitá v pôvodnom stave, neupravovaná.

Účinky: sediment je prírodný jav, ktorý neovplyvňuje akosť prírodnej liečivej vody. Liečenie chorôb tráviaceho ústrojenstva, žliaz s vnútornou sekréciou a vôbec porúch látkovej výmeny, ktoré spôsobujú deficit horčíka. Vysoký obsah železa a zároveň najnižší, takmer zanedbateľný obsah soli ju odlišujú od ostatných minerálnych prameňov na Slovensku. Práve vďaka spomínanému zloženiu je ako jedna z mála minerálnych vôd vhodná aj pre ľudí s vysokým krvným tlakom. Pre prítomnosť železa, životne dôležitej súčasti hemoglobínu, je liečivá minerálna voda odporúčaná najmä ženám, ktoré ho prirodzene strácajú z organizmu vo väčšej miere ako muži, ale aj každému, kto je vystavený väčšej fyzickej záťaži.

Zdroj: prameň Ľudovít, Korytnica. Výrobca: EURO-MINERAL s.r.o., Korytnica ([www.korytnica.eu](http://www.korytnica.eu))

---

## 2 Cieľ práce

Cieľom predkladanej diplomovej práce bolo zistiť mikrobiologickú kvalitu vzoriek minerálnych a liečivých vôd klasickou platňovou zried'ovacou metódou, a to:

- celkový počet mikroorganizmov,
- počet koliformných mikroorganizmov,
- počet sporulujúcich mikroorganizmov,
- počet mikroskopických húb (počet kvasiniek a počet vláknitých mikroskopických húb)

Ďalej sme posúdili rozdiely v mikrobiologickom zložení jednotlivých minerálnych a liečivých vôd pochádzajúcich z územia Slovenska dostupných v obchodných reťazcoch.

---

## 3 Metodika práce a metódy skúmania

### 3.1 Odber vzoriek

Cieľom tejto diplomovej práce bolo sledovanie mikrobiologického zloženia minerálnych vôd v danom časovom období. Vzorky boli odobraté z minerálnych a liečivých vôd, pochádzajúcich zo Slovenska a dostupných v obchodných reťazcoch balených v PET fľašiach, v dvoch opakovaníach, prvé v auguste roku 2010 a druhé v októbri roku 2010.

*Vzorky (číslo, názov minerálnej alebo liečivej vody, druh vody):*

1. Mítická (minerálna)
2. Ľubovnianska (minerálna)
3. Baldovská (minerálna)
4. Budiš (minerálna)
5. Fatra (liečivá)
6. Salvator (minerálna)
7. Slatina (minerálna)
8. Čerínska (minerálna)
9. Kláštorná (minerálna)
10. Korytnica (liečivá)

### 3.2 Postup práce

Na mikrobiologický rozbor sa použila platňová zried'ovacia metóda. Vzorky sa neriedili. V každej vzorke minerálnej a liečivej vody sa stanovovali počty koliformných baktérií podľa STN ISO 4832 (1997), celkový počet mikroorganizmov podľa STN EN ISO 4833 (1997), počet anaeróbných sporulujúcich baktérií a počet mikroskopických húb podľa STN ISO 7954 (1997). Pre každé stanovenie sa použilo 1 ml neriedenej vzorky ( $10^0$ ), očkovovalo sa v trojnásobnom opakovaní.

Pre stanovenie anaeróbných sporulujúcich baktérií sa roztok minerálnej a liečivej vody podrobil teplotnému šoku pri 80 °C počas 10 min, pred očkovaním. Mikroskopické huby sa stanovovali na dvoch živných médiách, aby sa zachytilo širšie spektrum uvedených mikroorganizmov. Podrobná charakteristika častí použitej metódy je v tabuľke 4.

**Tab.4. Charakteristika častí použitých metód (STN ISO 4832, 1997)**

Skupina	Použitá pôda	Spôsob očkovania	Podmienky kultivácie		
			vo vzťahu k O <sub>2</sub>	teplota	čas
<b>mikroorganizmov</b>	<b>živná pôda</b>				
<b>koliformné baktérie</b>	VČŽL	povrchovo	aeróbne	37 °C	24-48h
<b>celkový počet mikroorganizmov</b>	GTK	zaliatím	aeróbne	30 °C	48-72h
<b>anaeróbne</b>	MPA	zaliatím	anaeróbne	25 °C	48-72h
<b>sporujúce baktérie</b>					
<b>mikroskopické huby</b>	CD	povrchovo	aeróbne	25 °C	5-7dní
	SA	povrchovo	aeróbne	25 °C	5-7dní

VČŽL – agar s violetou kryštálovou, červenou neutrálnou, žltými soľami a laktózou, GTK – agar s glukózou, tryptónom a kvasničným extraktom, MPA – živný agar č. 2 (špecifický pre *Bacillus* species), CD – Czapek-Doxov agar (IMUNA, Šarišské Michaľany), SA – sladínový agar (Biomark laboratories, Pune)

Po kultivácii sa spočítali kolónie na platniach. Hodnota KTJ.ml<sup>-1</sup> sa určila podielom súčtu kolónií a misiek (na ktorých boli vzorky kultivované). Počty mikroskopických húb sa vyjadrili samostatne pre kvasinky a vláknité mikroskopické huby. Hodnoty počtu koliformných baktérií a celkového počtu mikroorganizmov sa porovnali s Potravinovým kódexom Slovenskej Republiky (2009).

### 3.3 Zloženie živných pôd

#### Zloženie živnej pôdy pre stanovenie koliformných baktérii

##### VČŽL agar

VČŽL agar je živná pôda s kryštálovou violetou, neutrálnou červenou, žltými soľami a laktózou.

Zloženie:

- Peptón pre bakteriológiu 7,0g
- Kvasničný autolyzát 3,0g
- Chlorid sodný 5,0g
- Žlté soli 1,5g
- Neutrálne červené 0,03g
- Kryštálová violet 0,002g

- 
- Laktóza 10,0g
  - Agar 10,5g

pH 6,9 – 7,4

Na prípravu sa použije 37g prípravku, ktorý sa suspenduje v 1000 ml destilovanej vody a nechá sa napučiavať. Pomocou 10% roztoku KOH sa upraví pH agaru tak, aby po sterilizácii dosahovalo hodnotu 7,2. Po rozvarení pri teplote 100 °C a ochladení na 50 °C sa živné médium nalialo do Petriho misiek v množstve asi 15 ml. VČŽL agar neautoklávuje.

### **Zloženie živnej pôdy pre stanovenie CPM**

#### **GTK agar**

Agar s glukózou, tryptónom a kvasničným extraktom

*Zloženie média:*

- Enzymatický kazeínový hydrolyzát 5,0 g
- Kvasničný autolyzát 2,5 g
- Glukóza 1,0 g
- Agar 15,00 g

pH 6,9 – 7,3

Prípravok v množstve 23,5 g sme suspendovali v 1000 ml destilovanej vody a nechali 30 min napučiavať. Po rozvarení pri teplote 100 °C, sa kultivačné médium sterilizovalo v autokláve pri teplote 121 °C počas 15 min.

### **Zloženie živnej pôdy pre stanovenie anaeróbných sporulujúcich baktérií**

#### **MPA agar**

Mäso-peptónový agar, Živný agar č. 2

*Zloženie:*

- Hovädzí odvar koncentrovaný (sušina) 5,000 g
- Peptón 5,000 g
- Živný základ 10,000 g
- Chlorid sodný 5,000 g
- Agar 15,000 g

pH 7,0 – 7,4

---

Prípravok v množstve 40 g sa suspendoval v 1000 ml destilovanej vody a nechal sa 30 min napučiavať. Po rozvarení pri teplote 100 °C nasledovala sterilizácia v autokláve pri teplote 121 °C počas 20 min.

### **Zloženie živných pôd pre stanovenie mikroskopických húb**

#### **CD agar**

Czapek – Doxov agar s bengálskou čerňou a tetracyklínom. Bengálska čerň pôsobí antibakteriálne a obmedzuje rast mikroskopických húb s rýchlejšie rastúcim mycéliom (napr. *Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*). Antibiotikum tetracyklín (prípadne chloramfenikol) sa používa na inhibíciu rastu baktérií.

Zloženie:

1) Sacharóza	30,00g
2) Dusičnan sodný	2,00g
3) Hydrofosforečnan draselný	1,00g
4) Heptahydrát síranu horečnatého	0,50g
5) Chlorid draselný	0,50g
6) Heptahydrát síranu železnatého	0,01g
7) Agar	25,00g
8) Destilovaná voda	1000 ml

#### **SA agar**

Sladinový agar – zloženie:

- pivovarská sladina zriedená na polovičnú koncentráciu	1000ml
- agar	20g

Na prípravu každej z týchto živných pôd sa použilo požadované množstvo konkrétneho sušeného prípravku, rozpustilo v teplom prostredí v 1000 ml destilovanej vody a priviedlo do varu. Po dokonalom rozpustení živných pôd sa sterilizovali v autokláve pri teplote 121 °C po dobu 15 minút. Nechali sa vychladnúť a skladovali sa v chladnom prostredí. Po rozvarení v prúdiacej pare sa pri teplote 100 °C médium ochladilo vo vodnom kúpeli na teplotu 45 °C a naliali sa do Petriho misiek.

---

### 3.4 Stanovenie počtu koliformných mikroorganizmov

Skúmané vzorky sa neupravovali riedením. Použili sa neriedené vzorky, aby sa mohli stanoviť počty koliformných baktérii v 1 ml vzorky minerálnej a liečivej vody.

Petriho misky sa vysterilizovali, označili a naliali sa do nich 16–20 ml živnej pôdy (VČŽL agaru), ktorá sa pripravila dopredu a nechala sa stuhnúť. Na takto pripravenú živnú pôdu sa sterilnou pipetou aplikovalo 1 ml vzorky. Z každej vzorky minerálnej alebo liečivej vody sa napipetovalo 3 krát, to znamená, že každá vzorka sa aplikovala do Petriho misiek so živou pôdou v trojnásobnom opakovaní. Naočkované inokulum sa rovnomerne rozotrela po povrchu živnej pôdy sklenenou L-tyčinkou, ktorá sa po každom použití opálila plameňom. Takto naočkované Petriho misky sa sušili vo vopred vypálenej horúco-vzdušnej sušiarňi poodkryté pri teplote 60 °C. Sušiareň sa pred sušením zahriala na maximum počas 20 minút. Keď sa z povrchu živnej pôdy odparila tekutina z naočkovaného inokula, sušenie sa ukončilo. Zistilo sa to naklonením misky do šikmej polohy. Ak už kvapky nestekajú, úloha je splnená. Po sušení Petriho misky sa inkubovali pri teplote 37 °C počas 24 až 48 hodín dnom nahor v termostate.

#### Hodnotenie výsledkov

Výsledky sa vyjadrili pre každú skúšanú vzorku zvlášť. Po kultivácii sa spočítali kolónie na platniach. Hodnota K<sub>TJ</sub>.ml<sup>-1</sup> sa určila podielom súčtu kolónií a misiek (na ktorých boli vzorky kultivované). Hodnoty počtu koliformných baktérií sa porovnali s Potravinovým kódexom Slovenskej Republiky (PK SR, 2009).

### 3.5 Stanovenie celkového počtu mikroorganizmov

Skúmané vzorky sa neupravovali riedením. Použili sa neriedené vzorky, aby sa mohli stanoviť celkové počty mikroorganizmov v 1 ml vzorky minerálnej a liečivej vody.

Každá vzorka sa očkovala v množstve 1ml v trojnásobnom opakovaní, súbežne do sterilných a riadne označených Petriho misiek. Inokulum sa zalialo najneskôr do 15 minút živnou pôdou GTK (16 – 18 ml). Dôkladne sa premiešalo a samovoľne sa nechalo stuhnúť. Po stuhnutí agaru sa naočkované živné pôdy inkubovali v termostate pri teplote 30 °C počas 72 hodín dnom nahor.



---

**Hodnotenie výsledkov:**

Výsledky sa vyjadrili pre každú skúšanú vzorku zvlášť. Po kultivácii sa spočítali kolónie na platniach. Hodnota KTJ.ml<sup>-1</sup> sa určila podielom súčtu kolónií a misiek (na ktorých boli vzorky kultivované). Hodnoty počtu koliformných baktérií sa porovnali s Potravinovým kódexom Slovenskej Republiky (PK SR, 2009).

**3.6 Stanovenie anaeróbných sporulujúcich baktérií**

Skúmané vzorky sa neupravovali riedením. Použili sa neriedené vzorky, aby sa mohli stanoviť počty anaeróbných sporulujúcich baktérií v 1 ml vzorky minerálnej a liečivej vody. Spóry anaeróbných baktérií sa stanovili po teplotnej inaktivácii (80 °C, 10 min) ostatných nesporelujúcich baktérií a vlastných vegetatívnych foriem za anaeróbných podmienok.

Každá vzorka sa očkovala v množstve 1ml v trojnásobnom opakovaní, do sterilných a riadne označených Petriho misiek. Inokulum sa zalialo najneskôr do 15 minút živnou pôdou MPA (16–18 ml). Dôkladne sa premiešalo a samovoľne sa nechalo stuhnúť. Po riadnom stuhnutí agaru sa naočkované živné pôdy inkubovali v termostate pri teplote 25 °C počas 48-72 hodín dnom nahor.

**Hodnotenie výsledkov:**

Výsledky sa vyjadrili pre každú skúšanú vzorku minerálnej a liečivej vody zvlášť. Po kultivácii sa spočítali kolónie na platniach. Hodnota KTJ.ml<sup>-1</sup> sa určila podielom súčtu kolónií a misiek, na ktorých boli vzorky kultivované. Výsledky boli posúdené na základe porovnania s Potravinovým kódexom Slovenskej Republiky (PK SR, 2009).

**3.7 Stanovenie mikroskopických húb**

Kultúry mikroskopických húb, nachádzajúcich sa v minerálnych a liečivých vodách, sa pripravili na dvoch živných médiách: Czapek–Doxovom agare (CD agar) a Sladinovom agare (SA agar).

Vyrastené kolónie sa druhovo a rodovo identifikovali. Pri identifikácii sa sledovali nasledovné znaky:

a) kultivačné znaky

- rýchlosť rastu kolónie

- 
- tvar kolónie
  - okraje kolónie
  - povrch kolónie
  - farba kolónie
  - tvorba a vylučovanie pigmentu do prostredia
  - tvorba exsudátov na povrchu kolónie

b) morfológické znaky

- 1) prítomnosť nepohlavných spór, ich tvar, veľkosť, spôsob tvorenia a usporiadania
- 2) typ vegetatívnej fruktifikačnej štruktúry, jej tvar a usporiadanie
- 3) prítomnosť osobitných útvarov (rizoidov, sklerócií, chlamydospór, stolónov a pod.)
- 4) prítomnosť pohlavných fruktifikačných štruktúr a spór.

Morfologické znaky sa sledovali v preparátoch s laktofenolom na podložných sklíčkach. Identifikáciu jednotlivých rodov a druhov mikroskopických húb sa vykonali podľa kľúčov.

---

## 4 Výsledky práce a diskusia

Je potrebné, aby vody pre ľudskú spotrebu boli bez akejkoľvek baktérie, ktorá môže predstavovať zdravotné riziko (Zamberlan Da Silva et al., 2008).

Tieto majú pozitívne, ale aj množstvo negatívnych vlastností. Okrem žiaduceho rozkladu odumretého materiálu dochádza často k nechcenému rozkladu, potravín ale aj iných surovín a produktov. V súčasnosti sa práve mikroskopickým hubám venuje veľká pozornosť. Zistilo sa, že niektoré z nich sú schopné produkovať toxické metabolity - mykotoxíny, ktoré ohrozujú zdravie konzumentov kontaminovaných potravín (Greenberger et al., 2001).

### 4.1 Mikrobiologická kvalita vôd sledovaná v auguste 2010

V auguste 2010 sme stanovovali mikrobiologické zloženie vybraných minerálnych a liečivých vôd na slovenskom trhu, balených v PET (polyetyléntereftalát) fľašiach. Jednotlivé vzorky vôd boli označené číslom od 1 po 10:

1. Mitická (minerálna)
2. Ľubovnianska (minerálna)
3. Baldovská (minerálna)
4. Budiš (minerálna)
5. Fatra (liečivá)
6. Salvator (minerálna)
7. Slatina (minerálna)
8. Čerínska (minerálna)
9. Kláštorná (minerálna)
10. Korytnica (liečivá).

Vzoriek minerálnych vôd bolo osem, liečivé vody boli dve. Všetky minerálne a liečivé vody v stanovovaní pochádzali zo Slovenska, a boli nakúpené v slovenských obchodných reťazcoch.

**Tab.5 Počet jednotlivých druhov sledovaných mikroorganizmov v KTJ.ml<sup>-1</sup> vo vodách (august 2010)**

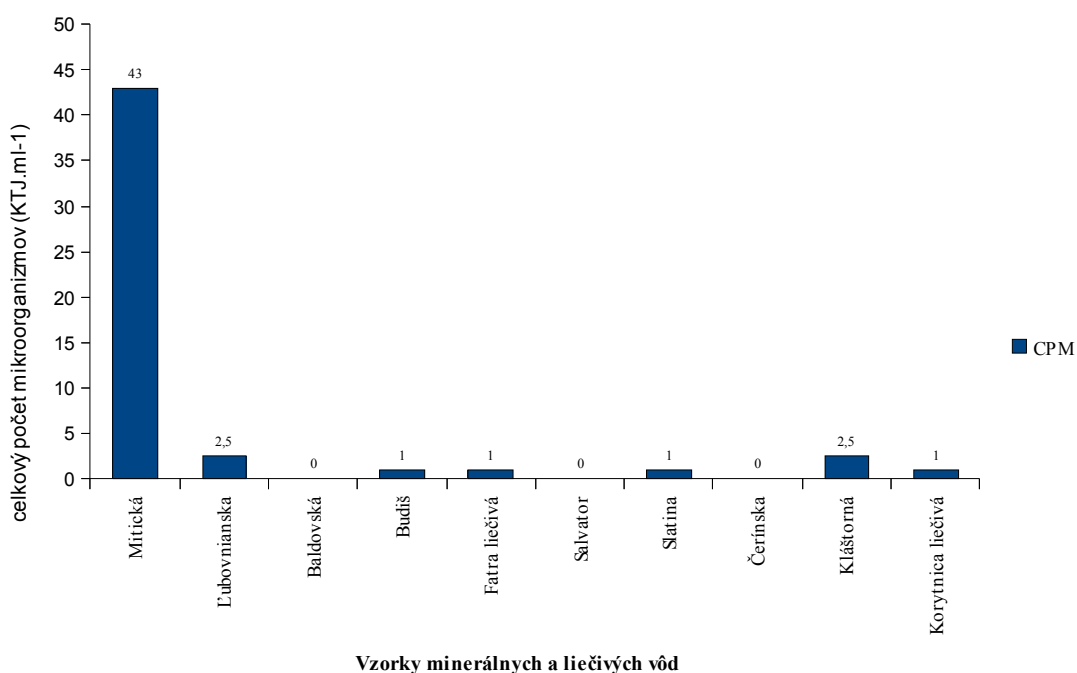
Vzorka č.	Koliformné baktérie	Celkový počet mikroorganizmov kultivovaných pri 30 °C	Anaeróbne sporujúce baktérie	Mikroskopické huby na CD agare	Mikroskopické huby na SA agare
1	0	43	0	0	1
2	0	2,5	0	0	0
3	0	0	1	0	0
4	0	1	51	0	1
5	0	1	5	0	0
6	0	0	3	0	0
7	0	1	0	1	0
8	0	0	5	0	0
9	0	2,5	1	0	0
10	0	1	2,5	0	0

Počty koliformných baktérií v 1 ml vzoriek minerálnych a liečivých vôd boli všetky 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Celkový počet mikroorganizmov v 1 ml vzoriek sa pohybovali v rozmedzí od 0 (vzorka č. 3, 6 a 8) do 43 (vzorka č. 1) KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počty anaeróbnych sporujúcich baktérií sa pohybovali v rozmedzí od 0 (vzorka č. 1, 2 a 7) do hodnoty 51 (vzorka č. 4) KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počty mikroskopických húb kultivovaných na CD agare mali všetky hodnotu 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>, až na vzorku č. 7, u ktorej sa stanovil počet mikroskopických húb na 1 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počty mikroskopických húb v 1 ml vzoriek kultivovaných na SA agare mali všetky hodnoty 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>, okrem vzorky č. 1 a 4, ktoré mali počet mikroskopických húb 1 KTJ.ml<sup>-1</sup> (tab.5).

Príloha č.1 k dvadsiatej ôsmej hlave tretej časti Potravinového kódexu stanovuje mikrobiologické a biologické požiadavky na kvalitu minerálnej vody. Podľa tejto prílohy počet koliformných baktérií musí byť vždy 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počet mikroskopických húb musí byť vždy 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počet anaeróbnych sporujúcich baktérií musí byť tiež vždy 0 KJT.ml<sup>-1</sup>.

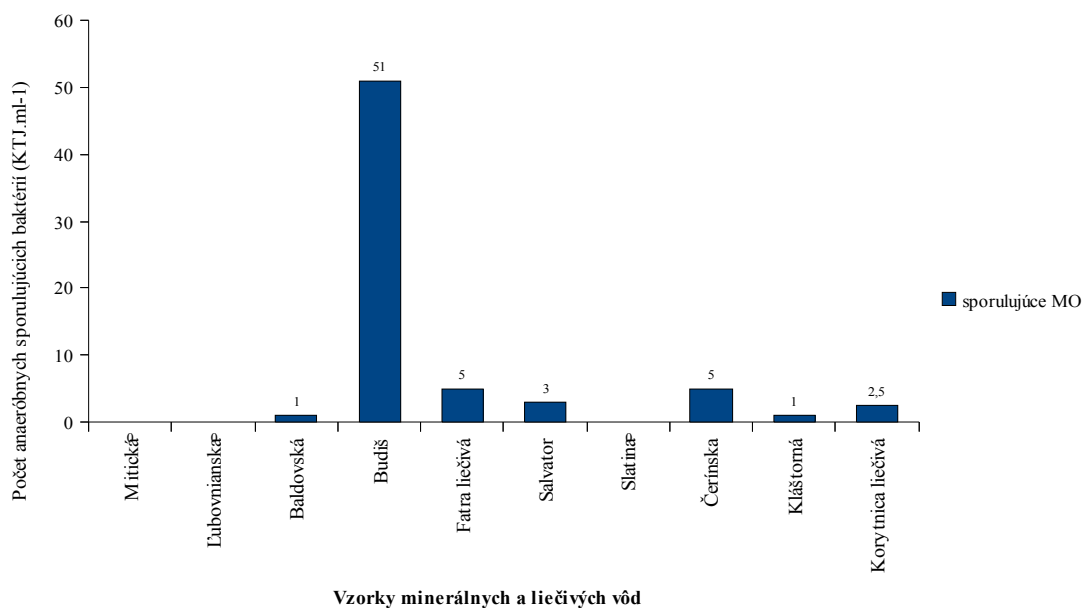
Pre koliformné baktérie je voda jedným z najdôležitejších prostredí ich dočasného pobytu v prostredí mimo živých organizmov. V závislosti od podmienok biotopu a svojich vlastných fyziologických dispozícií, môžu vo vode istý čas prežívať a za priaznivých okolností sa i rozmnožovať. Dĺžka pobytu vo vode závisí predovšetkým

od ich adaptačnej schopnosti na nové podmienky. Časové rozpätie prežívania v tomto biotope je široké, od niekoľko dní až rok a dlhšie. Ich prítomnosť indikuje použitie nevhodnej technológie pri úprave vody, dodatočnú kontamináciu, alebo zvýšený obsah organických látok. V tomto zmysle sa teda stanovovanie koliformných baktérii používa predovšetkým na indikáciu účinnosti úpravy vody. Variantom koliformných baktérii sú tzv. termotolerantné koliformné baktérie. Sú predovšetkým indikátorom účinnosti dezinfekcie pri úprave vody a možnej kontaminácie pri jej distribúcii (Javoreková, 2004).



**Obr. 1. Grafické znázornenie porovnania celkového počtu mikroorganizmov (CPM) vo všetkých vzorkách v KTJ.ml<sup>-1</sup> (august 2010)**

Najväčší celkový počet mikroorganizmov kultivovaných pri 30 °C zo všetkých skúmaných vzoriek bol zistený u Mitickej minerálnej vody a to 43 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Žiadne zistené mikroorganizmy touto metódou boli zistené u minerálnej vody Baldovská, Salvator a Čerínska (obr.1).



**Obr. 2. Porovnanie vôd na základe počtu anaeróbných sporujúcich baktérií v KTJ.ml<sup>-1</sup> (august 2010)**

Najväčší počet anaeróbných sporujúcich baktérií zo všetkých sledovaných vzoriek minerálnych a liečivých vôd bol stanovený vo minerálnej vode Budiš a to 51 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Nulový počet anaeróbných sporujúcich baktérií bol zistený vo vzorke minerálnej vody Mitická, Ľubovnianska a Slatina (obr. 2).

#### 4.2 Mikrobiologická kvalita vôd sledovaná v októbri 2010

V októbri 2010 sme stanovovali rovnakým postupom ako v auguste mikrobiologické zloženie vybraných minerálnych a liečivých vôd na slovenskom trhu, balených v PET (polyetyléntereftalát) fľašiach. Jednotlivé vzorky vôd boli označené číslom od 1 po 10:

1. Mitická (minerálna)
2. Ľubovnianska (minerálna)
3. Baldovská (minerálna)
4. Budiš (minerálna)
5. Fatra (liečivá)
6. Salvator (minerálna)

- 
7. Slatina (minerálna)
  8. Čerínska (minerálna)
  9. Kláštorňá (minerálna)
  10. Korytnica (liečivá).

Všetky minerálne a liečivé vody v stanovovaní pochádzali zo Slovenska, a boli nakúpené v slovenských obchodných reťazcoch.

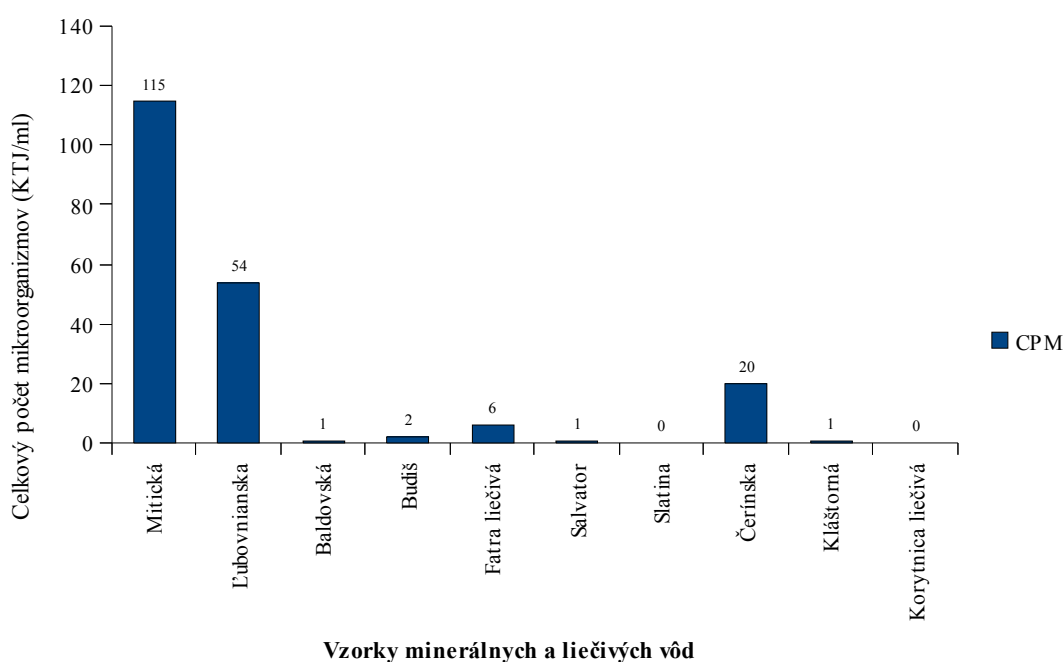
**Tab. 6. Počet jednotlivých druhov sledovaných mikroorganizmov v KTJ.ml<sup>-1</sup> vo vodách (október 2010)**

Vzorka č.	Koliformné baktérie	Celkový počet mikroorganizmov kultivovaných pri 30 °C	Anaeróbne sporulujúce baktérie	Mikroskopické huby na CD agare	Mikroskopické huby na SA agare
1	0	115	1	1	1
2	0	54	1	0	1
3	0	2	1	1	0
4	0	2	0	1	1
5	0	6	0	0	0
6	0	1	1	0	0
7	0	0	1	0	0
8	0	20	10	0	1
9	0	1	1	1	0
10	0	0	1	0	0

Počty koliformných baktérií v 1 ml vzoriek minerálnych a liečivých vôd boli všetky 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Celkový počet mikroorganizmov v 1 ml vzoriek sa pohybovali v rozmedzí od 0 (vzorka č. 7 a 10) do 115 (vzorka č. 1) KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počty anaeróbnych sporulujúcich baktérií sa pohybovali v rozmedzí od 0 (vzorka č. 4 a 5) do hodnoty 10 (vzorka č. 8) KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počty mikroskopických húb kultivovaných na CD agare mala väčšina hodnotu 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>, až na vzorky č. 1, 3, 4 a 9, u ktorých sa stanovil počet mikroskopických húb na 1 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počty mikroskopických húb v 1 ml vzoriek kultivovaných na SA agare mala väčšina hodnoty 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>, okrem vzorky č. 1, 2, 4 a 8, ktoré mali počet mikroskopických húb 1 KTJ.ml<sup>-1</sup> (tab. 6).

Príloha č.1 k dvadsiatej ôsmej hlave tretej časti Potravinového kódexu stanovuje mikrobiologické a biologické požiadavky na kvalitu minerálnej vody. Podľa tejto prílohy počet koliformných baktérií musí byť vždy 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počet mikroskopických húb musí byť vždy 0 jedincov/ml. Počet anaeróbných sporulujúcich baktérií musí byť tiež vždy 0 KJT.ml<sup>-1</sup>.

Koliformné kontaminanty vo vode, pochádzajúcej z podzemných zdrojov, sa často ocitajú v extrémnych situáciách vystavené mnohým stresovým faktorom. Medzi tieto stresové faktory patrí nízka dostupnosť živín, zmenené pH a koncentrácia rozpustených látok, nízka teplota, konkurencia a predátorské správanie pôvodných mikroorganizmov, príležitostná prítomnosť dezinfekčných prostriedkov a kolísavá koncentrácia kyslíka. Vzhľadom k tomu, že črevné organizmy sú často prispôbené k životu v anaeróbných podmienkach, alebo sú mikroaerofilné v ich primárnej lokalite, môže byť kyslík dôležitý faktor regulujúci prežitie v oligotrofnom prostredí, ako je minerálna voda (Roslev et al., 2004).



**Obr. 3. Grafické znázornenie porovnania celkového počtu mikroorganizmov (CPM) vo všetkých vzorkách v KTJ.ml<sup>-1</sup> (október 2010)**

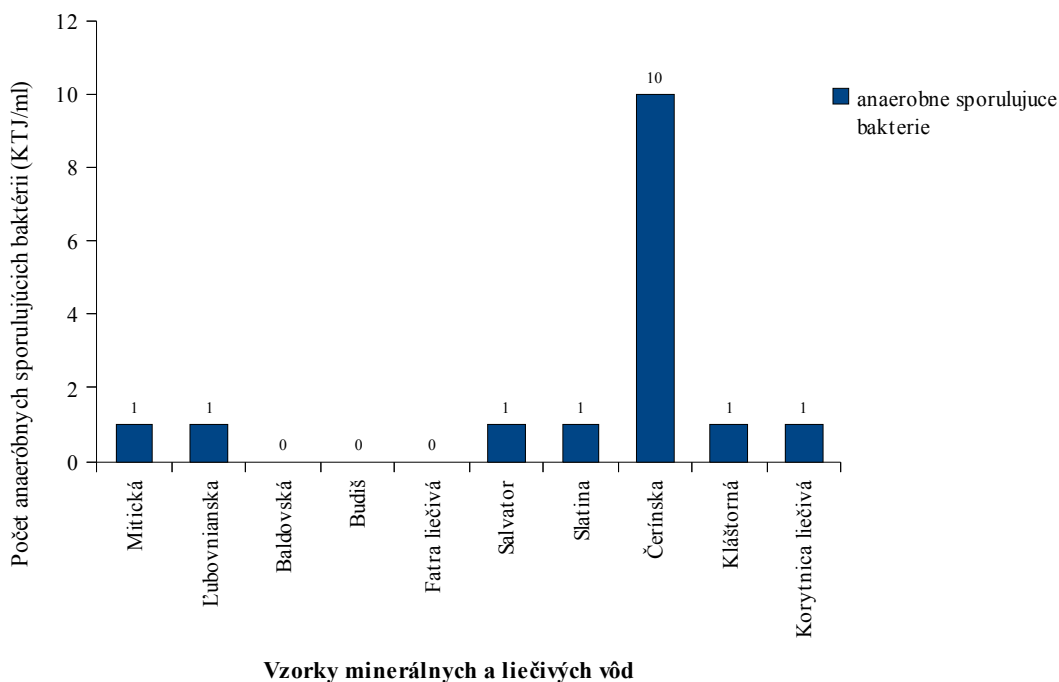
Najväčší celkový počet mikroorganizmov kultivovaných pri 30 °C zo všetkých skúmaných vzoriek bol zistený u Mitickej minerálnej vody a to 115 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Žiadne



zistené mikroorganizmy touto metódou boli zistené u minerálnej vody Slatina a u liečivej vody Korytnica (obr. 3).

Počet baktérií pri zdroji minerálnej a liečivej vody je všeobecne veľmi nízky, okolo  $10 \text{ KTJ.ml}^{-1}$ , ale existuje mnoho správ, že počet mikroorganizmov sa zvýši, a to najmä v nesýtenej vode, do  $10^4 - 10^5 \text{ KTJ.ml}^{-1}$  za 1-3 týždne skladovania (Amas et al., 1999).

Niektorí autori uvádzajú, že vysoký počet baktérií autochtónnej mikrobiálnej flóry vo vodnom prostredí môže ovplyvniť ľudské zdravie. Aj keď počet baktérií pri zdroji je všeobecne veľmi nízka, počty mikroorganizmov rýchlo rastú po plnení do fliaš a môže zostať pomerne konštantné po dobu aspoň 6 mesiacov (Messi et al., 2005).



**Obr. 4. Porovnanie vôd na základe počtu anaeróbných sporulujúcich baktérií v  $\text{KTJ.ml}^{-1}$  (október 2010)**

Najväčší počet anaeróbných sporulujúcich baktérií zo všetkých sledovaných vzoriek minerálnych a liečivých vôd bol stanovený vo minerálnej vode Čerínska a to  $10 \text{ KTJ.ml}^{-1}$ . Nulový počet anaeróbných sporulujúcich baktérií bol zistený vo vzorke minerálnej vody Baldovská, Budiš a vo vzorke liečivej vody Fatra (obr.4).

Rýchly rast baktérií, potom čo voda sa naplní do fliaš, môže byť zapríčinený okysličením vody v priebehu procesu, väčšou plochou fľaše, zvýšením teploty pri skladovaní a stopovým množstvom živín vylúhované z fľaše (Venieri et al., 2006).

Minerálna voda, ktorá je tichá a zatvorená v plastových nádobách, má zvýšené rozmnožovanie a rast baktérii vo vode. Sýtením balenej vody pomocou CO<sub>2</sub> je možné znížiť pH vody a preto je tu rast mikroorganizmov menej pravdepodobný. Navyše, baktérie sa zvyčajne vyskytujú vo väčšom počte v plastových nádobách ako v sklenených fľašiach, pretože plastové majú tendenciu byť viac priepustné pre vonkajší kyslík (Venieri et al., 2006).

**Tab. 7. Vyizolované rody mikroskopických húb kultivovaných na Czapek–Doxovom agare (CD agar) a Sladinovom agare (SA agar) v minerálnych a liečivých vodách (október 2010).**

<b>Vyizolované rody</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
Kvasinky	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i>	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
<i>Fusarium</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Vo vzorkách minerálnych a liečivých vôd sledovaných v októbri 2010 sa vyskytovali najčastejšie kolónie *Penicillium sp.* (30 %), ako kolónie vyskytujúce sa v minerálnej vode Baldovská na obrázku 6 v prílohe. Tiež sa vyskytovali kolónie mikroskopických húb v menších množstvách, a to rody *Aspergillus sp.* v množstve kolónií 20 % (obrázok 7, prílohy), *Fusarium sp.* v množstve kolónií 10 % (obr. 8, prílohy) a ojedinelý výskyt kolónie kvasiniek v minerálnej vode Mitická (obr. 9, prílohy).

Nevarez et al. (2009) zistili, že najčastejšie hubové rody izolované z minerálnej vody boli *Penicillium*, potom *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Alternaria* a *Acremonium*.

Criado et al. (2005) píše, že bolo vykonaných niekoľko štúdií z mikrobiológie distribučných systémov a balených vôd. Počas posledných rokov boli zistené niektoré problémy súvisiace s rastom plesní v minerálnych vodách balených v PET fľašiach

---

(polyetyléntereftalát). Formy mikroskopických húb najčastejšie izolovaných z týchto výrobkov boli *Penicillium spp.*, *Cladosporium cladosporioides* a *Alternaria alternata*.

Prítomnosť mikroskopických húb vo vodných zdrojoch môže prispieť k degradácii zložitých prírodných a antropogénnych látok, vzhľadom na ich široké enzymatické schopnosti. Aj keď neexistuje žiadny dôkaz, že vodné mikroskopické huby sú zapojené do vzniku chorôb, môže ich výskyt vo vode byť spojený s problémami chuti a zápachu, podráždením kože a alergickými reakciami, rovnako ako zvýšený výskyt oportúnnych celkových mykóz u pacientov s poškodenou imunitou (Pereira et al., 2010).

V súčasnosti sa žiaden autor konkrétne nevenuje mikrobiologickej kvalite slovenských minerálnych a liečivých vôd. Zahraniční autori sa venujú konkrétnym minerálnym vodám v zahraničí ako Grécko, Taiwan, Brazília či USA. Ich výsledky zistení porovnávajú z mikrobiologickými požiadavkami udávanými v smerniciach Európskej Únie a konkrétnych štátnych zákonoch a požiadavkách na minerálne vody.

Podľa Európskej smernice pre minerálne vody, prírodné minerálne vody musia byť bez *Pseudomonas aeruginosa* vo všetkých vzorkách s objemom 250 ml. Patogénne baktérie vo vode môžu byť poškodené expozíciou do optimálnej teploty, zasolením alebo toxickými chemickými látkami, či hladovaním (Ramalho et al., 2002).

Štúdie ukázali, že keď spóra mikroskopických húb kontaminuje minerálnu vodu už kolonizovanú baktériami, spóra môže prežiť, ale nemôže rásť do viditeľných myceliárnych foriem z dôvodu konkurencie medzi mikroorganizmami. Mikrobiologická kvalita minerálnej vody by mala spĺňať miestne normy pre vodu, ktoré sa môžu líšiť v každej krajine. V žiadnej z nich sa huby neberú do úvahy ako potenciálny poškodzovateľ verejného zdravia (Criado et al., 2005).

Všeobecný názor je, že mikroskopické huby nerastú viditeľným mycéliom v minerálnych vodách, ktoré obsahujú veľmi nízke množstvá živín (organická hmota) pre organizmus. Možný pôvod organických látok pre rast mikroskopických húb je nový materiál fliaš známy ako polyetyléntereftalát (PET). Je pripravený z kyseliny tereftalovej alebo jej esterov, a etylénglykolu. Počas skladovania PET uvoľňuje organické látky (napr. niekoľko plastických doplnkových látok, rezíduí z procesu polymerizácie rozkladu zlúčeniny atď), ktoré by mohli zabezpečiť dodatočný substrát pre rast mikroorganizmov (Criado et al., 2005).

Chemické zloženie minerálnych vôd sa môže v priebehu skladovania vo fľašiach meniť. Použitie PET (polyetyléntereftalátu) fliaš na balenie minerálnych vôd sa stalo

---

viac populárne, vzhľadom k potrebe využitia ich fyzikálnych a chemických vlastností ako je pevnosť, transparentnosť, nízka hmotnosť a toxikologická bezpečnosť. Mnohí autori študovali vplyv termooxidácie a chemickej degradácie materiálu PET. Predtým, než sa naplní fľaša vodou, musí prejsť sériou krokov. Počas týchto postupov môže nastať hydrolýza a tepelná degradácia v materiály plastovej fľaše. Všetky polyméry sa degradujú týmito vonkajšími faktormi ako slnečné svetlo a teplota. Produkty rozkladu PET môžu migrovať do vody vo fľašiach (Nawrocki et al., 2002).

Criado et al. (2005) zistili, že huby môžu dorásť do viditeľného mycélia v minerálnych a mineralizovaných vodách, ktoré obsahujú veľmi nízku koncentráciu organických látok. Keď boli fľaškové vody naočkované suspenziou spór, bol pozorovaný rast mikroskopických húb až po niekoľkých mesiacoch inkubácie. Na druhej strane, keď boli naočkované vody po 5 mesiacoch skladovania, detekcia rastu bola rýchlejšia. Tieto výsledky podporujú hypotézu, že v priebehu skladovania PET uvoľňujú organické látky do vody a tak poskytujú ďalšie substráty pre mikrobiálny rast (Criado et al., 2005).

Biscardi et al. (2003) zistili, že minerálne vody a nealkoholické nápoje sú veľmi často umiestnené v plastových fľašiach, kde môžu byť skladované niekoľko mesiacov. Avšak, veľmi malá pozornosť bola venovaná prípadným zmenám v kvalite týchto nápojov po dlhšom skladovaní v plastových nádobách. Je dobre známe, že potraviny a voda sa môže kontaminovať zložkami plastových obalov a nádob difúznym procesom známym ako migrácia. Niektoré z týchto migrantov sú známe mutagénne alebo karcinogénne látky, napríklad acetaldehyd, formaldehyd, a vinylchlorid.

Mechanické poruchy, ľudské chyby, alebo zhoršenie kvality zdroja vody môže viesť k zlyhaniu aj pri najlepších upravovacích systémoch a dezinfekčných procesoch. Kvalita vody často súvisí s mierou bakteriálnej kontaminácie (Zamberlan Da Silva et al., 2008).

Kontaminujúce baktérie zle prežívajú v balenej vody a môžu byť fyziologicky poškodené po expozícii vo vode, pretože oni nie sú dobre prispôsobené chemickým a fyzikálnym podmienkam vo vode. I napriek nepriaznivým podmienkam, môžu zostať životaschopné patogény vo vode a spôsobovať rôzne ochorenia žalúdka po ich požití. Autochtónne baktérie minerálnej vody môžu mať inhibičný účinok na prežitie niektorých ukazovateľov a patogénnych mikroorganizmov. V sladkej vode je teda nízky počet prirodzených baktérii a následne aj malé množstvo akejkoľvek inhibičnej

---

látky, ktorá môže byť syntetizovaná pre priamu kontrolu prípadných patogénov a tiež nižšia súťaž výrazne obmedzená živinami (Ramalho et al., 2001).

---

## Záver

Slovenská republika je rozlohou malá, ale na minerálne pramene veľmi bohatá krajina. Veď v minulosti bolo na Slovensku spísaných až 1645 prameňov minerálnych vôd z najrôznejším zložením. Podľa dnešných výskumov ich je existujúcich „iba“ 1241. Každý tento prameň dáva minerálnu vodu s charakteristickým zložením, výdatnosťou a teplotou. Minerálne a liečivé vody zo Slovenska sú dnes obľúbené u ľudí, u ktorých prevláda názor, že sú bez mikrobiologickej kontaminácie. Táto diplomová práca tento názor vyvrátila.

Na základe dvoch opakovaní stanovenia mikrobiologického zloženia minerálnych a liečivých vôd pomocou kultivácie sa zistili zaujímavé výsledky. Počty koliformných baktérií v oboch opakovaní boli 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>, pričom táto hodnota spĺňala slovenskú normu pre mikrobiologické požiadavky danú v Potravinovom kódexe.

Celkový počet mikroorganizmov v 1 ml vzoriek sa po kultivácii pri 30 °C pohybovali v rozmedzí od 0 do 43 KTJ.ml<sup>-1</sup> v auguste 2010 a od 0 do 115 KTJ.ml<sup>-1</sup> v októbri 2010. Najväčší celkový počet mikroorganizmov kultivovaných pri 30 °C zo všetkých skúmaných vzoriek bol zistený u Mitickej minerálnej vody (v auguste aj októbri 2010). Žiadne zistené mikroorganizmy touto metódou boli zistené u minerálnej vody Baldovská, Salvator a Čerínska (august 2010) a u minerálnej vody Slatina a u liečivej vody Korytnica (október 2010).

Počty anaeróbných sporulujúcich baktérií v 1 ml vzoriek sa po kultivácii pri 25 °C pohybovali v rozmedzí od 0 do hodnoty 51 KTJ.ml<sup>-1</sup> v auguste a od 0 do hodnoty 10 KTJ.ml<sup>-1</sup> (október). Najväčší počet anaeróbných sporulujúcich baktérií zo všetkých sledovaných vzoriek minerálnych a liečivých vôd bol stanovený vo minerálnej vode Budiš (august 2010) a Čerínska (október 2010). Nulový počet anaeróbných sporulujúcich baktérií bol zistený vo vzorke minerálnej vody Mitická, Ľubovnianska, Slatina (august) a Baldovská, Budiš a vo vzorke liečivej vody Fatra (október).

Počty mikroskopických húb kultivovaných na CD agare v auguste 2010 mali všetky hodnotu 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>, až na vzorku minerálnej vody Slatina, u ktorej sa stanovil počet mikroskopických húb na 1 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počty mikroskopických húb kultivovaných na CD agare v októbri mala väčšina hodnotu 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>, až na vzorky minerálnych vôd Mitická, Baldovská, Budiš a Kláštorňá, u ktorých sa stanovil počet mikroskopických húb na 1 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Podľa noriem udaných v Potravinovom kódexe tie vzorky vody,

---

ktoré obsahovali mikroskopické huby, nesplnili mikrobiologické požiadavky na kvalitu minerálnej vody.

Počty mikroskopických húb v 1 ml vzoriek kultivovaných na SA agare v auguste 2010 mali všetky hodnoty 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>, okrem vzorky minerálnej vody Mitická a Budiš, ktoré mali počet mikroskopických húb 1 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Počty mikroskopických húb v 1 ml vzoriek kultivovaných na SA agare v októbri 2010 mala väčšina hodnoty 0 KTJ.ml<sup>-1</sup>, okrem vzorky minerálnej vody Mitická, Lubovnianska, Budiš a Čerínska, ktoré mali počet mikroskopických húb 1 KTJ.ml<sup>-1</sup>. Minerálne vody, ktoré obsahovali akékoľvek mikroskopické huby nesplnili mikrobiologické požiadavky na kvalitu minerálnej vody udané v Potravinovom kódexe v prílohe 1.

Vo vzorkách minerálnych a liečivých vôd sledovaných v októbri 2010 sa vyskytovali najčastejšie kolónie *Penicillium sp.* (30 %), *Aspergillus sp.* v množstve kolónií 20 % a *Fusarium sp.* v množstve kolónií 10 % a ojedinelý výskyt kolónie kvasiniek v minerálnej vode Mitická.

Na základe týchto výsledkov môžem konštatovať, že pri plnení minerálnych a liečivých vôd nedošlo ku fekálnej kontaminácii. Avšak v týchto vodách boli zistené nežiaduce mikroskopické huby, buď ako dôsledok kontaminácie vôd organickými látkami, alebo nízkeho množstva prirodzenej autochtónnej mikroflóry, ktorá by potláčala rast a rozmnožovanie mikroskopických húb. Výskyt mikroskopických húb môže byť tiež na základe súčasného trendu plniť minerálne a liečivé vody do fliaš PET, ktoré môžu uvoľňovať do vody nežiaduce látky, pre mikroskopické huby zabezpečujúce zdroj uhlíka a energie. Je potreba zlepšiť systém dohľadu na priemyselné balenie vôd. Prírodná minerálna a liečivá voda musí pochádzať zo nefalšovaného, chráneného zdroja a musia sa dodržiavať prísne kvantitatívne a kvalitatívne predpisy.

---

## Použitá literatúra

- ACCOLAS, J. P. - BRAMLEY, H. J. - COGEN, T. H. 1999. *Dairy Microbiology*. London: Robinson, 1999, 301 s.
- ADAMS, M. - MOSS, M. O. 2002. *Food microbiology*. Cambridge : The royal Society of chemistry, 2002. 6 vydanie. 479 s. ISBN 0-85404-611-9
- AMAS, A. B. - SUTHERLAND, J. P. 1999. A survey of the microbiological quality of bottled water sold in the UK and changes occurring during storage. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 48, 1999, p. 59-65.
- BISCARDI, D. - MONARCA, S. - DE FUSCO, R. - SENATORE, F. - POLI, P. - BUSCHINI, A. - ROSSI, C. - ZANI, C. 2003. Evaluation of the migration of mutagens/carcinogens from PET bottles into mineral water by Tradescantia/micronuclei test, Comet assay on leukocytes and GC/MS. In *The Science of the Total Environment*, vol. 302, 2003, p. 101-108.
- BOŽÍKOVÁ, J. 2004. Zachytávanie minerálnych vôd. In *Vodohospodársky spravodajca*, roč. 47, 2004, č.1, s. 13–15. ISSN 0322-886X.
- CABRAL, D. - FERNÁNDEZ PINTO, V. E. 2002. Fungal spoilage of bottled mineral water. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 72, 2002, p. 73-76.
- CISÁRIK, J. et al. 2006. Zdravie z hlbín Zeme. [online]. 2008. [cit. 2009-05-02]. Dostupné na internete: [http://www.bionet.schule.de/schulen/novaky/health\\_from\\_underground/sk/mineraly.html](http://www.bionet.schule.de/schulen/novaky/health_from_underground/sk/mineraly.html)>.
- CRIADO, M. V. - FERNÁNDEZ PINTOL, V. E. - BADESSARI, A. - CABRAL, D. 2005. Conditions that regulate the growth of moulds inoculated into bottled mineral water. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 99, 2005, p. 343-349.
- DEMNEROVÁ, K. - KARPÍŠKOVÁ, R. - PAZLAROVÁ, J. 2008. *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter sakazakii*. In *Výživa a potraviny*, roč. 63, 2008, č.1, ISSN 1211-846X
- EPRALIMA. 2011. Mikroorganizmy a potraviny. [online]. 2011. [cit. 2011-02-12]. Dostupné na internete: <[http://www.epralima.com/infoodquality/Documentos\\_eslovaco\\_SK/Manuais/3Mikroorganizmy\\_a\\_potraviny.pdf](http://www.epralima.com/infoodquality/Documentos_eslovaco_SK/Manuais/3Mikroorganizmy_a_potraviny.pdf)>).
- GÖRNER, F – VALÍK, Ľ. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia potravín*. 1. vydanie, Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 s., ISBN 80-967064-9-7
- GREENBERGER, P. A. - FLAIS, M. J. 2001. Bee pollen – induced anaphylactic reaction in an unknowingly sensitized subject. In *Ann Allergy Asthma Immunol*, roč.



- 
- 86, 2001. č. 2, s. 239-42.
- HANIGOVSKÁ, S. - PIXOVÁ, L. - VERČIMÁKOVÁ, K. 2008. Uhličité minerálne vody Východného Slovenska a možnosti ich využitia. In *Acta Montanistica Slovaca*, roč. 13, 2008, č. 2, s. 259 – 266.
- HOCKING, A. D. 1998. Moulds and yeasts associated with foods of reduced water activity: ecological interactions. SEOW, C. C. (ed.): Food preservation by moisture control. London and New York: Elsevier applied science, 1998, s.57-72., ISBN 1-85166-261-8
- HOLOBRADÝ, K. - CHRENEKOVÁ, E. - VOLLMANNOVÁ, A. 1991. *Chémia vody*. Nitra: VŠP, 1991. 80 s. ISBN 80-85175-88-6.
- HOPFENZITZOVÁ, P., 1999. *Minerálne látky*. Bratislava: Media Klub, 1999. 88 s. ISBN 80-88963-04-4.
- HORNÍK, A. 1996. *Špeciálna mikrobiológia*. Nitra: VŠP, 1996, 68 s., ISBN 80-7137-301-X.
- HRUŠOVSKÝ, Š. 2008. Pitný režim.[online]. 2008. [cit.2009-05-02]. Dostupné na internete: <<http://www.rajec.com/file.php?file=209>>
- HUDECOVÁ, D. - ŠIMKOVIČ, M. 2009. *Mikrobiológia*. Bratislava: STU. 2009. 293 s. ISBN 978-80-227-3194-2
- HYNIE, O. 1963. Hydrogeológia ČSSR II. *Minerálne vody*. Praha : ČSAV, 1963. 797 s. ISBN 82-64788-52-0.
- CHMIELEWSKÁ, E. 2004. *Ochrana vôd*. Bratislava: EPOS. 2004. 111 s. ISBN 80-8057-620-3
- JANKOVIČ, Ľ. 1997. O podivuhodných vodách Uhorska : K (dvoj) výročiu priekopníka balneologického výskumu na Slovensku Juraja Wernhera (1497-1567). In *Slovensko*, roč. 21, 1997, č. 3, s.58-59. ISSN 0231-7303.
- JAVOREKOVÁ, S. 2004. *Mikroorganizmy a ich indikátorová hodnota vo vodnom prostredí*. Nitra: SPU. 2004. 81s. ISBN 80-8069-427-3
- KALISKÝ, J. 1998. Zdravá pitná voda je skutočným pokladom : minerálne a pitné vody musia zostať prístupným bohatstvom spoločnosti. In *Hospodárske noviny*, roč. 6, 1998, č. 173, s. 9. ISSN 0862-9567.
- KAČÁNIOVÁ, M. et al. 2007. Microbiological quality comparison of *Apis mellifera* and *Bombus hortorum* pollen. In *Bezpečnosť a kontrola potravín: zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie*, 2007. Nitra: SPU. 1. diel. 70-73 s., ISBN 978-80-8069-860-7
-

- 
- KIESLINGEROVÁ, N. - BARTL, V. 1993. Stanovení a význam vodnej aktivity. In *Veterinářství*, roč 43, 1993, č.4, s. 145-148.
- KORENKOVÁ, K. - ŠIVECOVÁ, L. 2007. Minerálne vody okolia Šváboviec a Gánoviec. [online]. 2007. [cit. 2009-05-02]. Dostupné na internete: <[http://www.zssvabovce.edu.sk/projekty/projekt\\_min\\_vody.doc](http://www.zssvabovce.edu.sk/projekty/projekt_min_vody.doc)>
- KRAHULEC, P. - et al. 1977. *Minerálne vody Slovenska: Balneografia a krenografia*. Martin: Osveta, 1977. 452 s. ISBN 70-033-78.
- LEE, J. - LEE, C. S. - HUGUNIN, K. M. - MAUTE, C. J. - DYSKO, R. C. 2010. Bacteria from drinking water supply and their fate in gastrointestinal tracts of germ-free mice: A phylogenetic. In *Water Research*, vol. 44, 2010, p. 5050 – 5058.
- MALÝ, J. - MALÁ, J. 2006. *Chemie a technologie vody*. Brno: Ardec s.r.o. 2006. 2 vydanie. 329 s. ISBN 80-86020-50-9.
- MESSI, P. - GUERRIERI, E. - BONDI, M. 2005. Antibiotic resistance and antibacterial activity in heterotrophic bacteria of mineral water origin. In *Science of the Total Environment*, vol. 346, 2005, p. 213-219.
- MRAČKO, M. 2003. *Potravinový kódex aktualizované znenie*. Bratislava : Epos, 2003. 354 s. ISBN 80-8057-547-9.
- NARIADENIE VLÁDY SR č. 263/2004 z 21. apríla 2004, o podmienkach uznania prírodných minerálnych vôd.
- NAWROCKI, J. - DABROWSKA, A. - BORCZ, A. 2002. Investigation of carbonyl compounds in bottled waters from Poland. In *Water Research*, vol. 36, 2002, p. 4893–4901.
- NEVAREZ, L. - VASSEUR, V. - LE MADEC, A. - et al. 2009. Physiological traits of *Penicillium glabrum* strain LCP 08.5568, a filamentous fungus isolated from bottled aromatised mineral water. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 130, 2009, p. 166-171.
- PEREIRA, V. J. - FERNANDES, D. - CARVALHO, G. - BENOLIEL, M. J. - SAN ROMA, M. V. - CRESPO, M. T. 2010. Assessment of the presence and dynamics of fungi in drinking water sources using cultural and molecular methods. In *Water Research*, vol. 44, 2010, p. 4850-4859.
- POLÁČEK, Š. – KULICH, J. – TOMÁŠ, J. et al. 2005. *Anorganická chémia*. Nitra : SPU, 2005. 413 s. ISBN 80-8069-580-6.
- RAMALHO, R. - CUNHA, J. - TEIXEIRA, P. - GIBBS, P. A. 2002. Modified *Pseudomonas* agar: new differential medium for the detection/enumeration of
-

- 
- Pseudomonas aeruginosa* in mineral water. In *Journal of Microbiological Methods*, vol. 49, 2002, p. 69-74.
- RAMALHO, R. - AFONSO, A. - CUNHA, J. - TEIXEIRA, P. - GIBBS, P. A. 2001. Survival characteristics of pathogens inoculated into bottled mineral water. In *Food Control*, vol. 12, 2001, p. 311-316.
- REBRO, A. 1996. *Vzácné a obdivované vody Slovenska*. Piešťany : Turista, 1996. 182 s. ISBN 80-85670-10-0.
- REBRO, A. – KRAHULEC, P. – PORUBSKÝ, A. et al. 1979. *Vody uzdravujúce a osviežujúce*. Martin : Osveta, 1979. 260 s. ISBN 70-004-79.
- ROSENBERG, F. 2003. The Microbiology of Bottled Water. In *Clinical Microbiology Newsletter*, vol. 25, no. 6, 2003, p. 41-43.
- ROSLEV, P. - BJERGBAEK, L. A. - HESSEL SOE, M. 2004. Effect of oxygen on survival of faecal pollution indicators in drinking water. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 96, 2004, p. 938-945.
- STN ISO 4832 Mikrobiológia – M4. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónií v potravinách a krmivách, 1997.
- STN EN ISO 4833 Mikrobiológia – M1. Všeobecné pokyny na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov metódou počítania kolónií v potravinách a krmivách, 1997.
- STN ISO 7954 Mikrobiológia – M10. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu kvasiniek a plesní metódou počítania kolónií v potravinách a krmivách, 1997.
- ŠTEVLÍKOVÁ, T. - JAVOREKOVÁ, S. - TANČINOVÁ, D. - MAKOVÁ, J. 2006. *Mikrobiológia 2 časť*. Nitra: SPU, 2006. 156 s. ISBN 80-8069-683-7
- TANČINOVÁ, D. - LABUDA, R. 2009. *Mykológia*. Nitra: SPU. 110 s. ISBN 978-80-552-0162-7
- TANČINOVÁ, D. - MAKOVÁ, J. - et al. 2008. *Mikrobiológia potravín*. Nitra : SPU, 2008, 2. vydanie. ISBN 978-80-552-0145-0
- VENIERI, D. - VANTARAKIS, A. - KOMNINO, G. - PAPAPETROPOULOU, M. 2006. Microbiological evaluation of bottled non-carbonated („still“) water from domestic brands in Greece. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 107, 2006, p. 68-72.
- VÉGH, R. 1997. Príroda nám namiešava kvalitné nápoje : Z 1550 slovenských zdrojov minerálnej vody sa na výrobu nápojov používa 15. In: *Slovenský profit*, roč. 5, 1997, č. 39, s. 13.
-

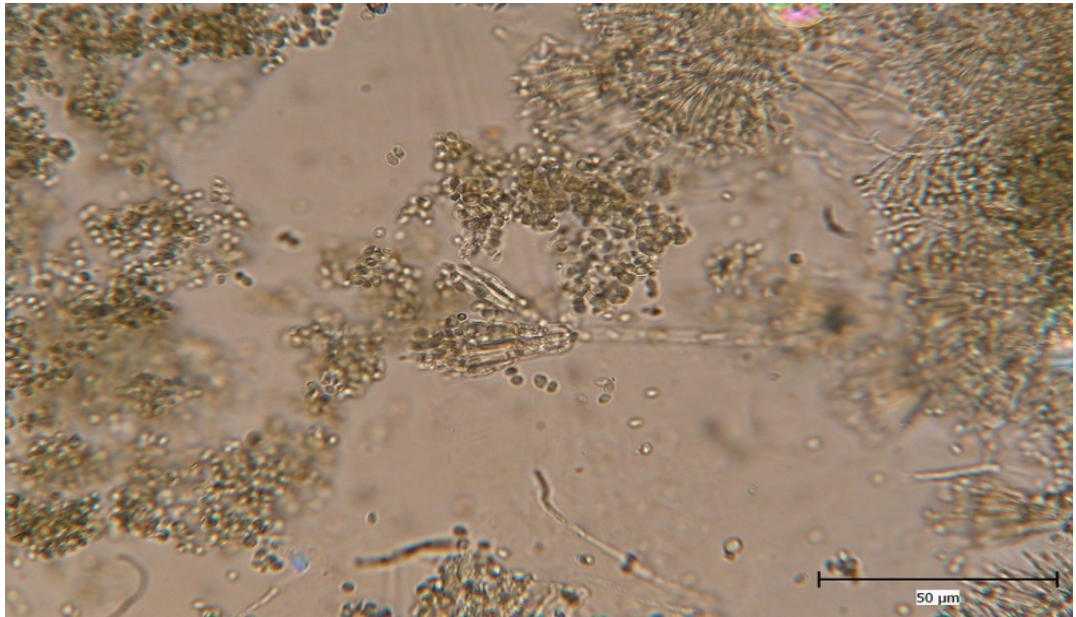
- 
- VYHLÁŠKA č. 100/2006 MZ SR zo 6. februára 2006, ktorou sa stanovujú požiadavky na prírodnú liečivú vodu a prírodnú minerálnu vodu, podrobnosti o balneologickom posudku, rozdelenie, rozsah sledovania a obsah analýz prírodných liečivých vôd a prírodných minerálnych vôd.
- VYHLÁŠKA č. 212/2000 MZ SR zo 3. júla 2000, o rozdelení, rozsahu sledovania a obsahu analýz prírodných liečivých zdrojov a prírodných zdrojov minerálnych stolových vôd.
- VÝNOS MP SR a MZ SR z 15. marca 2004 č. 608/9/2004 - 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca prírodnú minerálnu vodu, pramenitú vodu a balenú pitnú vodu.
- ZAMBERLAN DA SILVA, M. E. - SANTANA, R. G. - GUILHERMETTI, M. - FILHO, I. C. - ENDO, E. H. - UEDA-NAKAMURA, T. - NAKAMURA, C. V. - FILHO, B. P. D. 2008. Comparison of the bacteriological quality of tap water and bottled mineral water. In *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol. 211, 2008, p. 504-509.
- ZEMAN, M. – MACHKOVÁ, N. – TEAM ŠTUDENTOV. 1999. Delenie minerálnych vôd podľa normy. In *Minerálne pramene Slovenskej republiky*. [online]. 1999. [cit. 2008-04-13]. Dostupné na internete: <<http://www.sazp.sk/slovak/struktura/ceev/DPZ/pramene/pramene.html>>
- MINERÁLNE VODY. 2006. Súčasnosť. [online]. 2006. [cit. 2009-03-10]. Dostupné na internete: <[www.baldovska.sk](http://www.baldovska.sk)>
- MINERÁLNE VODY. 2007. História. [online]. 2007. [cit. 2011-02-22]. Dostupné na internete: <[www.budis.sk](http://www.budis.sk)>
- MINERÁLNE VODY. 2002. [online]. 2002. [cit. 2009-02-10]. Dostupné na internete: <<http://limo.lubovna.sk>>
- ČERÍNSKA. 2005. [online]. 2005. [2009-02-25]. Dostupné na internete: <[www.cerinska.sk](http://www.cerinska.sk)>
- KLÁŠTORNÁ. 2005. [online]. 2005. [cit. 2009-01-25]. Dostupné na internete: <[www.klastorna.sk](http://www.klastorna.sk)>.
- MINERÁLNE VODY. 2008. Korytnica perlivá. [online]. 2008. [cit. 2009-05-03]. Dostupné na internete: <[www.korytnica.eu](http://www.korytnica.eu)>
- MITICKÁ. 2003. [online]. 2003. [cit. 2009-01-05]. Dostupné na internete: <[www.miticka.com](http://www.miticka.com)>.

---

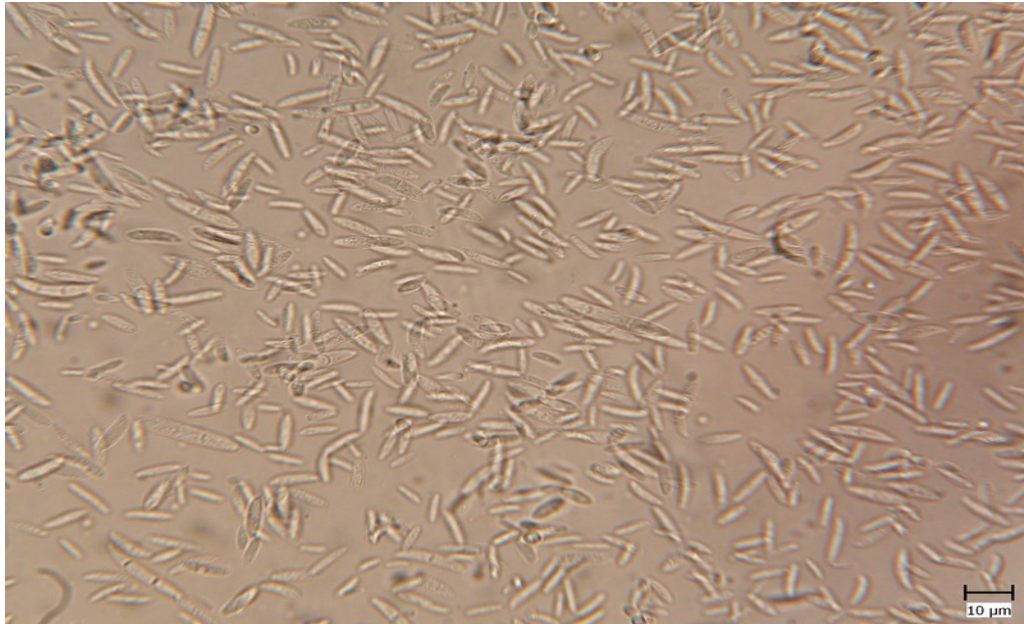
SLATINA. 2007. [online]. 2007. [cit. 2009-04-23]. Dostupné na internete:  
<[www.slatina.sk](http://www.slatina.sk)>.

---

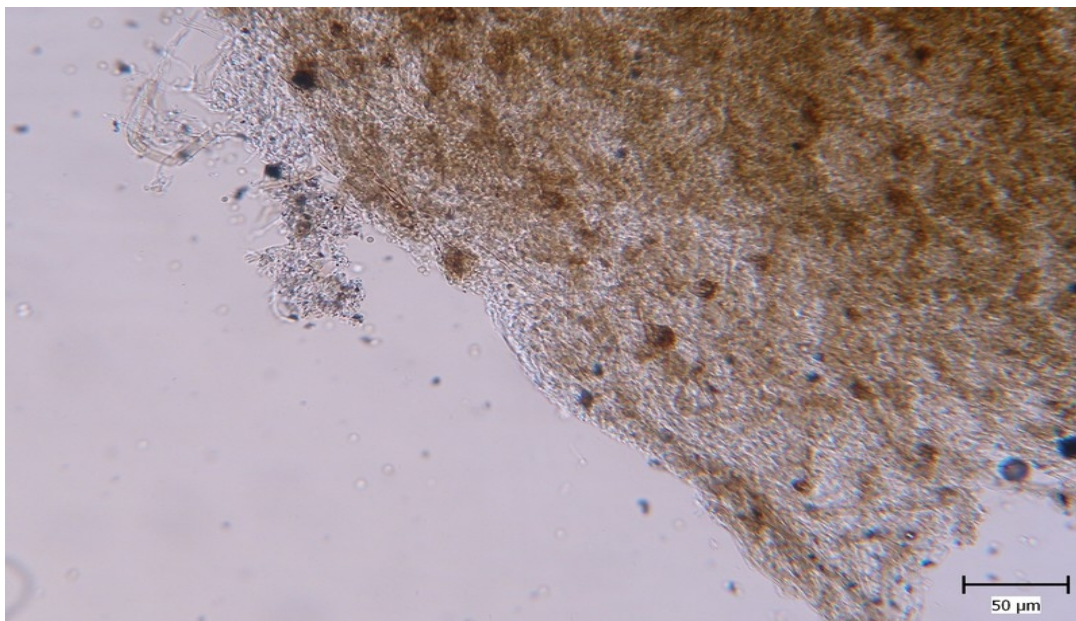
## Prílohy



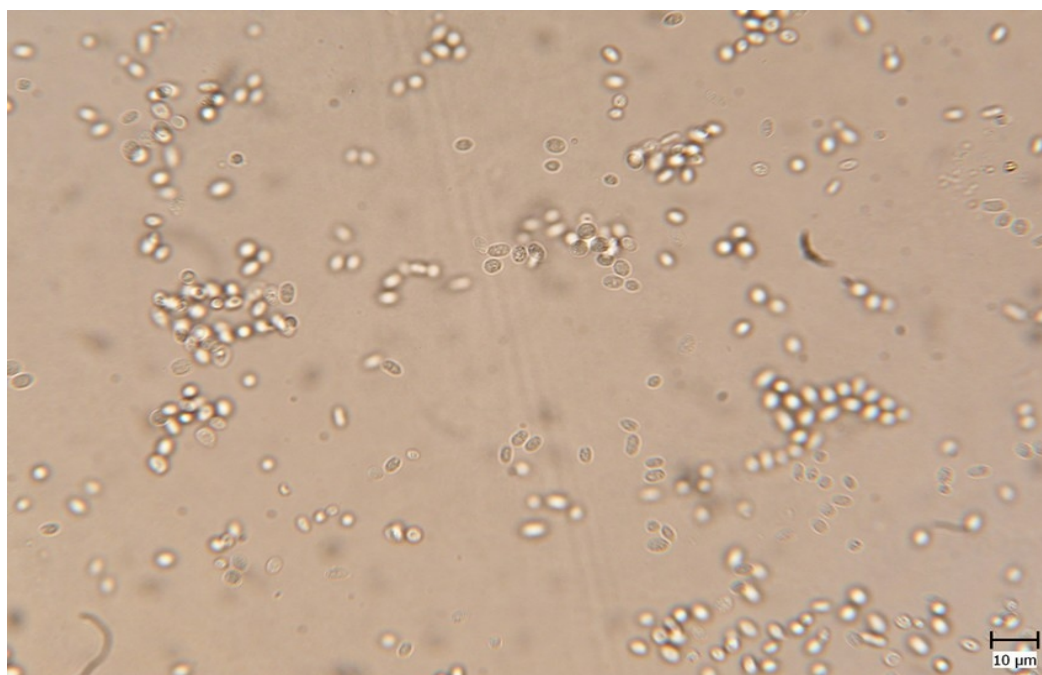
**Obr. 5. *Penicillium* sp. vyizolovaný z minerálnej vody Baldovská v októbri 2010. Fotené pri zväčšení 10x100. (Foto, Kňazovická, 2010).**



**Obr. 6. *Fusarium* sp. vyizolované z minerálnej vody Budiš v októbri 2010. Fotené pri zväčšení 10x100. (Foto, Kňazovická, 2010).**



**Obr. 7** *Aspergillus* sp. vyizolované z minerálnej vody Ľubovnianska v októbri 2010. Fotka urobená pri zväčšení 10x40. (Foto, Kňazovická, 2010).



**Obr. 8.** Kvasinky vyizolované z minerálnej vody Mitická v októbri 2010. Fotka urobená pri zväčšení 10x100 (Foto, Kňazovická, 2010).