

HIGIENA ŻYWNOŚCI ZWIERZĘCEGO POCHODZENIA

JOZEF MALESZEWSKI

Badania nad wytwarzaniem i aktywnością bakteriocyn enterokoków w żywności

Z Samodzielnej Pracowni Mikrobiologii i Biochemii Produktów Zwierzęcych
Instytutu Weterynarii w Puławach z siedzibą w Warszawie

Antagonistyczne właściwości enterokoków wobec różnych szczepów tego samego gatunku oraz wobec innych rodzajów bakterii wykazano w poprzedniej pracy (6) i innych opracowaniach (2, 3, 5, 8). Na szczególne podkreślenie zasługują wyniki badań, w których stwierdzono antagonistyczne działanie szczepów *Str. faecalis* w stosunku do drobnoustrojów termopornych, pozostających najczęściej jako mikroflora resztkowa w produktach spożywczych poddawanych ogrzewaniu. Dotyczy to przede wszystkim tlenowych laseczek przetrwalnikujących, niektórych beztlenowców przetrwalnikujących oraz samych enterokoków, których bakteriocyny mogą kształtować stosunki liczbowe mikroflory, zwłaszcza w produktach spożywczych długo przechowywanych (4).

Celem niniejszej pracy było wykazanie czy warunki tlenowe i beztlenowe oraz niektóre substancje dodawane do przetworów mięsnych wpływają na wytwarzanie enterocyn lub warunkują wrażliwość na nie.

Materiał i metody

Do doświadczeń użyto 5 szczepów enterokoków wytwarzających enterocyny, 5 szczepów wrażliwych oraz szczepy *Bac. cereus* i *Bac. subtilis*, wyselekcjonowane podczas poprzednich badań (6).

Zdolność wytwarzania enterocyn i wrażliwość na nie badanych szczepów oznaczano na podłożu agarowym (Oxoid) z dodatkiem peptonu i dekstrozy wg Brandis i wsp. (1). Hodowlę 24 godzinną szczepów enterokoków w podłożu Todd-Hewitta inkubowaną w warunkach tlenowych nakraplano po 0,05 cm³ na krąż-

Tab. 1. Wrażliwość enterokoków na enterocyny w warunkach tlenowych i beztlenowych

Szczepy enterokoków wytwarzające enterocyny	Szczepy enterokoków wrażliwych							
	Nr 4		Nr 63		Nr 77		Nr 175	
	szerokość strefy zahamowania wzrostu w mm							
	T	B	T	B	T	B	T	B
Nr 2	4	3	4	2	5	3	3	1
Nr 7	3	1	4	2	3	2	4	3
Nr 18	4	4	4	1	4	2	3	1
Nr 30	4	3	4	3	4	2	5	2
Nr 75	4	2	4	4	4	1	4	3

Objaśnienia: T — warunki tlenowe; B — warunki beztlenowe.

ki bibułowe, uprzednio nałożone na podłoże agarowe. Po 48 godzinnej inkubacji w warunkach tlenowych lub beztlenowych w temp. 37°C, kiedy nastąpiło wytworzenie enterocyn pod i wokół nakraplonych krążków bibułowych, płytki zalewano 7 cm³ podłoża agarowego 0,7% wymieszanego z 1 cm³ 24 godzinnej hodowli bulionowej szczepu wrażliwego. Po zastygnięciu podłoża płytki inkubowano w temp. 37°C w ciągu 24 godzin w warunkach tlenowych lub beztlenowych celem określenia wpływu warunków hodowli na wrażliwość badanych szczepów. Po tym czasie wyniki odczytywano mierząc szerokość strefy zahamowania wzrostu szczepu wrażliwego. Oznaczając hamujące działanie enterocyn na kiełkowanie przetrwalników laseczek tlenowych oraz form wegetatywnych tych drobnoustrojów w warunkach tlenowych, postępowano wg zasad podanych wyżej, posługując się 12 godzinną bulionową hodowlą laseczek tlenowych inkubowaną w temp. 30°C oraz zawiesiną samych przetrwalników przygotowaną wg metody zalecanej przez Michalską (7).

Doświadczenia z wybranymi szczepami wykonano badając wytwarzanie enterocyn i wrażliwość na nie w warunkach tlenowych i beztlenowych oraz na podłożach agarowych z dodatkiem: 0,2% do 0,4% NaNO₂; 0,02% do 0,04% NaNO₂; 6,5% do 8,5% NaCl; 5% odtłuszczonego mleka lub z dodatkiem 3,5%, 7% i 10% zastępczych preparatów białkowych w miejsce suchego bulionu dodawano do agaru. Większy dodatek preparatów białkowych do podłoża agarowego był niecelowy bowiem słaba rozpuszczalność preparatów w wodzie

Tab. 2. Wytwarzanie enterocyn w warunkach tlenowych i beztlenowych

Szczepy enterokoków wytwarzające enterocyny	Szczepy enterokoków wrażliwych							
	Nr 4		Nr 63		Nr 77		Nr 175	
	szerokość strefy zahamowania wzrostu w mm							
	T	B	T	B	T	B	T	B
Nr 2	5	2	4	1	5	2	3	2
Nr 7	3	2	4	2	6	3	3	1
Nr 18	2	2	3	2	3	2	2	3
Nr 30	5	3	5	2	3	2	3	1
Nr 75	6	3	4	4	5	3	6	2

Objaśnienia: T — warunki tlenowe; B — warunki beztlenowe.

uniemożliwiało odczytanie strefy zahamowania wzrostu. Użyte preparaty białkowe: kazeinian sodu, Supro 50, Purina gritis oraz sojowy grysik TNG-20-40.

Wyniki i omówienie

Wpływ warunków tlenowych i beztlenowych na wrażliwość enterokoków wobec enterocyn wytworzonych przy dostępie powietrza ilustruje tab. 1. W większości przypadków badane szczepy były mniej wrażliwe w warunkach beztlenowych. Nie zawsze jednak różnice okazały się wyraźne. Dotyczy to zwłaszcza tych wyników, w których różnice szerokości strefy zahamowania wzrostu szczepu wrażliwego nie przekraczały 1 mm. Dostęp lub brak powietrza nie wpływał na wrażliwość szczepów Nr 4, 63 wobec enterocyn szczepów 18 i 75.

Tab. 3. Wrażliwość przetrwalników i form wegetatywnych *Bac. subtilis* i *Bac. cereus* na enterocyny enterokoków

Szczepy enterokoków wytwarzających enterocyny	<i>Bac. subtilis</i>		<i>Bac. cereus</i>	
	hodowla	prze-trwal.	hodowla	prze-trwal.
	szerokość strefy zahamowania wzrostu w mm			
Nr 2	2	6	8	10
Nr 18	2	5	5	8
Nr 30	4	7	5	7

Warunki beztlenowe okazały się mniej korzystne dla wytwarzania enterocyn przez większość badanych szczepów, co ilustruje tab. 2. Najmniejsze różnice w wytwarzaniu enterocyn w warunkach tlenowych i beztlenowych wykazywał szczep Nr 18. Trudny jest natomiast do wytłumaczenia wynik dotyczący szczepu Nr 75, którego enterocyny wytworzone w warunkach tlenowych i beztlenowych hamo-

wały jednakowo wzrost szczepu Nr 63. Być może brak powietrza podczas wytwarzania enterocyn nie tylko wpływa na ilość, ale także na ich właściwości, wobec których nie zareagował szczep Nr 63. Przypadek ten wymaga jednak dokładniejszego rozpoznania.

Tab. 3 ilustruje wrażliwość przetrwalników *Bac. subtilis* i *Bac. cereus* na enterocyny, przy czym szczególnie wrażliwe okazały się przetrwalniki *Bac. subtilis*. Wyniki te potwierdzają poprzednie wstępne obserwacje (6).

Dodatek do podłoża preparatów białkowych w ilości 10% powodował zahamowanie wytwarzania enterocyn. Kazeinian sodu już w ilości 3,5% ograniczał działanie enterocyn, podobnie jak dodatek 5% odtłuszczonego mleka tab. 4, natomiast 3,5% lub 7% pozostałych preparatów białkowych nie miało znaczącego wpływu. Różnice szerokości stref zahamowania wzrostu szczepów wrażliwych na podłożu z dodanymi sojowymi preparatami w porównaniu do stref na podłożu bez dodatków, nie przekraczały 1–2 mm.

W obecności 6,5% NaCl, azotynu do 0,02%, azotanu do 0,2% nie zauważono zmian w wytwarzaniu enterocyn i wrażliwości badanych szczepów w warunkach tlenowych i beztlenowych. Dopiero dwukrotne zwiększenie stężeń azotynów lub azotanów hamowało wytwarzanie enterocyn bez zahamowania wzrostu. Dodatek większych ilości soli kuchennej 8%, 10% powodował jednocześnie zahamowanie wzrostu i wytwarzanie enterocyn.

Wykonanie doświadczenie, pomimo że nie znajduje bezpośredniego zastosowania w mikrobiologicznych badaniach środków spożywczych, wyjaśnia niektóre zależności, jakie mogą mieć miejsce w środowisku żywności zanieczyszczonej mikroflorą, wśród której znajdują się enterokoki posiadające zdolności wytwarzania enterocyn.

Tab. 4. Wpływ dodatku 5% mleka do podłoża na wytwarzanie enterocyn

		Szczepy drobnoustrojów wrażliwych					
		Enterokoki			Pałeczki z rodzaju <i>Salmonella</i>	<i>Bac. subtilis</i>	<i>Bac. cereus</i>
		Nr 4	Nr 63	Nr 175			
		szerokość strefy zahamowania wzrostu w mm					
Nr 2	podłoże z mlekiem	2	3	5	2	1	1
	bez mleka	4	4	6	4	4	4
Nr 18	podłoże z mlekiem	3	3	3	1	2	2
	bez mleka	4	3	6	4	5	6
Nr 30	podłoże z mlekiem	5	5	5	2	2	3
	bez mleka	6	7	6	4	4	5

Wnioski

1. Antagonistyczne właściwości enterokoków warunkowane są w większości przypadków dostępem tlenu.

2. Badane substancje i związki chemiczne stosowane jako dodatki w przetwórstwie spożywczym mogą, zależnie od ich stopnia stężenia, hamować lub ograniczać wytwarzanie enterocyn.

Piśmiennictwo

1. Brandis H., Brandis V.: Path. Microbiol. 25, 632, 1962.
2. Brandis H., Brandis V., Van de Loo.: Zentbl. Bact. Parasitkde I 196, 331, 165.
3. Brock J., Peacher B., Pierson D.: J. Bact. 86, 102, 1963.
4. Ingram M., Barnes E.: Anns. Inst. Pasteur, Lille 7, 101, 1955.
5. Kafel S.: Bull. vet. Inst. Puławy 12, 1967.
6. Maleszewski J., Stec E.: Roczniki PZH 26, 663, 1975.
7. Michalska I.: Acta microb. pol. 12, 331, 1963.
8. Tzannetis S., Leonardopoules J., Papavassilion J.: J. appl. Bact. 33, 358, 1970.

Adres autora: doc. dr. habil. Józef Maleszewski, ul. Sobieskiego 113 m. 21, 00-763 Warszawa.

Малешевский Ю. — Исследования по образованию и активности бактериоцинов энтерококков в продовольственных продуктах.

Исследовалось влияние соевых субститутов белка, казеината натрия, обрат, нитратов, нитритов и поваренной соли на способность образования бакте-

риоцинов энтерококками. Определялось также влияние анаэробных условий на образование энтероцинов и чувствительность к ним исследуемых штаммов.

Субституты соевого белка тормозили образование энтероцинов лишь в количестве 10%, казеинат натрия — в количестве 3,5%, обрат — в количестве 5%. Нитраты тормозили образование энтероцинов в концентрации 0,4%, нитриты — 0,04%. Концентрация 8% поваренной соли тормозила рост энтерококков. Меньшие концентрации не влияли на образование энтероцинов. Анаэробные условия ограничивали образование энтероцинов и уменьшали чувствительность большинства исследуемых штаммов энтерококков.

Maleszewski J. — The activity of bacteriocins produced by enterococci in food.

The influence of soya bean substitutes for protein, sodium caseinate, skim milk, nitrates, nitrites and NaCl on the production of bacteriocins was examined. In addition there was determined the effect of anaerobic conditions on the development of bacteriocins and the sensitivity of bacterial cells to their action. The substitutes of protein inhibited the production of enterocins at the concentration of 10%, sodium caseinate at 3.5% and skim milk at 5%. Nitrates at the strength of 0.4% and nitrites at 0.04% interfered with the development of bacteriocins. Sodium chloride at the concentration of 8% inhibited the increase of enterococci. Anaerobic conditions limited the formation of enterocins and decreased the sensitiveness of the majority of enterococci examined.

LEONARD WIDERA, JERZY MADLER, JERZY ZALEWSKI
Gdynia

Wskaźniki chemiczne mięsa buławika siwego (*Macrurus berglax*)

Buławik siwy (*Macrurus berglax*), rodzina *Macruridae*, rząd *Gadiformes*, żyje w strefie wód borealno-subarktycznych, w płn.-zach. akwenach Atlantyku, od przylądka Cod po Grenlandię południową. Występuje również w wodach Islandii. Wyspy Niedźwiedziej, w morzu Barentsa, od Finmarku do Spitsbergen. Najczęściej bytuje na głębokościach od 200 do 800 m. Osiąga długość do 100 cm. Rozród odbywa się jesienią. Ciało buławika siwego pokryte jest silną, szorstką łuską, zaopatrzoną w kolce. Z tego też powodu, połowy buławika siwego mają mniejsze znaczenie przemysłowe. Niemniej gatunek ten odławiany jest w formie przyłowu na cele przetwórstwa spożywczego. W niektórych zaś krajach przerabiany jest na mączkę rybną (15, 16).

Mięso buławika siwego posiada białoszara barwę i jest lekko wodniste. Smak mięsa jest specyficzny, lekko kwaskowaty. Posiada nieco niższe walory organoleptyczne (smak, zapach, barwa) aniżeli np. mięso ryb dorszowatych (*Gadidae*).

Buławik siwy rozprowadzany jest w obrocie krajowym w formie filetów b/sk lub w formie tuszek. Znajduje też zastosowanie w przetwórstwie garmazeryjnym. W ostatnim okresie zwraca się uwagę na możliwość zwiększenia połowów tego gatunku ryb z przeznaczeniem na cele przetwórstwa spożywczego, przy uwzględnieniu dodatkowych zabiegów technologicznych, mających na celu usunięcie niepożądanych łusek (19, 20).

W ocenie przydatności spożywczej i technologicznej ważną rolę odgrywają parametry chemiczne mięsa. Skład chemiczny mięsa buławika siwego jest mało poznany. Fakt ten stwarza więc praktyczne przesłanki do przeprowadzenia badań w celu poznania podstawowych cech chemicznych mięsa buławika siwego.

Materiał i metody

Materiał do badania stanowiły mrożone tusze zdrowych ryb z gatunku buławik siwy, o zachowanych w pełni cechach świeżości. Próbkę do badań pochodziły z dostaw statkowych, z połowów w różnych okresach sezonowych w akwenach płn.-zach. Atlantyku. Ogółem