

HIGIENA I TECHNOLOGIA ŚRODKÓW SPOŻYWCZYCH

ANDRZEJ SKOCZEK

Wpływ składu recepturalnego niektórych konserw rybnych na proces kiełkowania przetrwalników *Clostridium botulinum*

Z Ośrodka Naukowo-Badawczego Służby Weterynaryjnej

Pomimo stosunkowo małej oporności na ciepło przetrwalników *Cl. botulinum E* istnieje wciąż niebezpieczeństwo przeżywania mutantów bardziej ciepłoopornych w procesie przemysłowej sterylizacji. Wprawdzie stosowana temperatura sterylizacji przewyższa znacznie teoretyczną oporność przetrwalników, praktyka wykazuje, że nie daje to jednak gwarancji ich pełnej likwidacji w gotowym produkcie. Potwierdzeniem tego są obserwacje Canna i wsp. (2) poczynione w Wielkiej Brytanii. Autorzy poddali badaniom bakteriologicznym konserwy rybne pochodzące z sieci handlowej. Na ogólną ilość 649 badanych konserw, w 5-ciu stwierdzili *Cl. botulinum E*.

Potencjalne niebezpieczeństwo zatrucia związane jest zawsze z przełamaniem fazy spoczynku przetrwalników i powstaniem form wegetatywnych zdolnych do produkcji toksyny. Dlatego też istotnym z punktu widzenia sanitarnego jest poznanie procesu kiełkowania przetrwalników *Cl. botulinum* w różnych gatunkach konserw.

Większość dotychczasowych obserwacji procesu kiełkowania przeprowadzono na pożywkach syntetycznych o znanym składzie i w ściśle określonych warunkach (1, 3, 9, 10, 12). Umożliwia to wprawdzie przesłedzenie wpływu poszczególnych czynników na kiełkowanie, jednak badania przeprowadzone bezpośrednio w produktach spożywczych o określonych normami składach recepturalnych, pozwalają na ustalenie oddziaływania całego produktu na proces kiełkowania.

Biorąc pod uwagę brak tego rodzaju obserwacji w dostępnej literaturze, a jednocześnie widząc praktyczną potrzebę wyjaśnienia tego zagadnienia postanowiono przeprowadzić wstępną analizę procesu kiełkowania przetrwalników *Cl. botulinum E* w konserwach rybnych znajdujących się aktualnie na rynku krajowym. Obserwacje przeprowadzono zarówno w wyciągach wodnych z konserw rybnych, jak i bezpośrednio w puszkach.

Materiał i metody

Do badań użyto:

a) konserwy rybne:

1. Flądra w sosie pomidorowym, data prod. 17.01.72 r., prod. Sp. Pr. Rybołówstwa i Przetw. Rybnego „Certa” — Szczecin
 2. Filety śledziowe w sosie pomidorowym, data prod. 4.10.72 r., prod. PPDiUR „Odra” — Świnoujście.
 3. Filety z makreli w sosie pomidorowym „Rok”, data prod. 20.09.71 r. — prod. PPDiUR „Odra” — Świnoujście
 4. Filety z makreli w sosie pomidorowym, data prod. 25.03.72 r., prod. PPDiUR „Odra” — Świnoujście.
 5. Flądra w sosie musztardowym, data prod. 20.09.71 r., prod. Sp. Pr. Rybołówstwa i Przetw. Rybnego „Certa” — Szczecin
 6. Filety śledziowe w sosie musztardowym, data prod. 10.04.72 r., prod. Zakł. Rybne — Gdańsk
 7. Flądra w oleju aromatyzowanym z papryką i cebulą, data prod. 11.11.71 r., prod. Sp. Pr. Rybołówstwa i Przetw. Rybnego „Certa” — Szczecin
 8. Filety śledziowe w oleju aromatyzowanym, data prod. 15.11.71 r., prod. PPDiUR „Odra” — Świnoujście.
 9. Dorsz po mazursku, data prod. 12.04.72 r., prod. Sp. Pr. Rybołówstwa i Przetw. Rybnego „Certa” — Szczecin
 10. Paprykarz szczeciński, data prod. 25.07.72 r., prod. PPDiUR „Gryf” — Szczecin
 11. Sałatka z makreli, import. Jugosławia
 12. Karp faszerowany, data prod. 27.11.71 r., prod. Przeds. Przemysł.-Handl. Centrala Rybna — Kraków.
- b) sterylizowane wyciągi wodne z wymienionych konserw rybnych,
- c) przetrwalniki *Cl. botulinum E* (szczep 1161, kol. PZH).

Przetrwalniki uzyskiwano przez wytrawienie z form wegetatywnych zgodnie z metodyką podaną przez Walker i Batty (13).

Z badanych konserw wykonano wyciągi wodne 1:2 według ogólnie przyjętej metodyki, rozlano po 10 ml do probówek pod parafiną i sterylizowano w autoklawie w temperaturze 121°C przez 30 min. Wyciągi wykonane z trzech konserw każdego gatunku. Następnie do trzech rzędów probówek z przygotowanymi wyciągami (łącznie po 9 próbek) wprowadzano przyjętą umownie liczbę 50 tys. przetrwalników *Cl. botulinum E* zawieszonych w 0,5 ml płynu fizjologicznego. Gęstość zawiesiny obliczano na stoliku Thoma stosując mieszalnik do białych krwinek. Kiełkowanie przetrwalników obserwowano w okresie 72 godzin, obliczając procentowy stosunek przetrwalników i laseczek barwionych Gramem.

W drugiej części doświadczeń, zawiesinę przetrwalników *Cl. botulinum E* w tej samej ilości i objętości wprowadzono bezpośrednio do konserw (po 5 sztuk każdego gatunku). W tym celu po wyjąłowieniu wiecz-

ka konserwy, wykonano w nim niewielki otwór wprowadzając zawieszynę strzykawką, a następnie otwór lutowano. Tak zakażone konserwy wstawiano do termostatu inkubując w temperaturze 30°C przez 10 dni. W ocenie próby stosowano kryteria przyjęte w normie badań termostatowych (5).

zwiększającym się asortymentem konserw produkowanych według różnorodnych receptur, rozszerza się również liczba czynników wpływających na stan sanitarny końcowego produktu. Takie czynniki, jak początkowa liczba prze-

Tab. 1. Wyniki próby termostatowej konserw rybnych zakażonych przetrwalnikami *Cl. botulinum E*.

Nr konserwy	Asortyment konserwy	Numery konserw w próbie termost.				
		1	2	3	4	5
1	Flądra w sosie pomidorowym	+	+	+	+	+
2	Filety śledziowe w sosie pomidorowym	+	+	+	+	+
3	Filety z makreli w sosie pomidorowym „Rok”	+	+	+	+	+
4	Filety z makreli w sosie pomidorowym	+	+	+	+	+
5	Flądra w sosie musztardowym	-	+	-	-	+
6	Filety śledziowe w sosie musztardowym	-	+	-	-	-
7	Flądra w oleju aromatyzowanym z papryką i cebulą	-	-	-	-	-
8	Filety śledziowe w oleju aromatyzowanym	+	+	+	+	+
9	Dorsz po mazursku	+	+	+	-	-
10	Paprykarz szczeciński	-	-	+	-	-
11	Sałatka z makreli	+	+	+	-	-
12	Karp faszerowany	+	+	+	-	-

Wyniki

Wyniki kiełkowania przetrwalników *Cl. botulinum E* w wyciągach z konserw rybnych przedstawiono na ryc. 1—12 w formie średnich z procentowej ilości przetrwalników i wyrosłych z nich laseczek.

Rozpoczęcie kiełkowania przetrwalników między 0—3 godz. inkubacji obserwowano w wyciągach nr 2, 3, 8, 9, 10, między 3—6 godz. w wyciągach nr 11 i 12, między 6—9 godz. w wyciągach nr 1, 4, 5, 7 i między 12—24 godz. w wyciągach nr 6.

Przyjmując jako kolejną wartość porównawczą moment wykiełkowania 50% przetrwalników można użyte wyciągi z konserw podzielić na 2 grupy.

Pierwszą grupę stanowią wyciągi z konserw, w których w różnym czasie doszło do wykiełkowania ponad 50% przetrwalników i przecięcia krzywych na wykresie. Drugą grupę stanowią wyciągi w których nie zaobserwowano rozwoju przetrwalników doprowadzającego do przecięcia krzywych.

Rozwój ponad 50% przetrwalników i przecięcia krzywych następowało w czasie 6—9 godz. w wyciągach nr 1, 3, 12, w czasie 9—12 godz. w wyciągach nr 2, 4, 8, 11 i w czasie 24—48 godz. wyciągach nr 5, 9, 10. W badanym przedziale czasowym 72 godz. stwierdzono rozwój form wegetatywnych zaledwie do 6% w wyciągu nr 6 i powyżej 11% w wyciągu nr 7.

Ostatnią wartością porównawczą był moment zakończenia procesu kiełkowania przetrwalników. Obserwowano go po 12 godz. w wyciągach nr 2, 3, 8, 12, po 24 godz. w wyciągu nr 1, po 48 godz. w wyciągu nr 4 i 10 oraz po 72 godz. w wyciągu nr 9. Po 72 godz. zakończono obserwację procesu kiełkowania przetrwalników w wyciągach nr 5, 6, 7, a ilość form wegetatywnych wynosiła kolejno 7,8%, 6%, 9%.

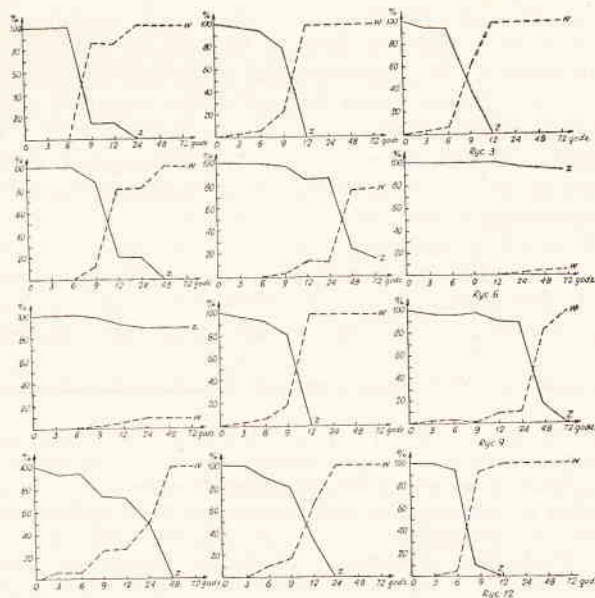
Tab. 1 przedstawia wyniki termostatowania zakażonych przetrwalników konserw rybnych.

Ogólnie poddano termostatowaniu po 5 puszek każdego gatunku konserw. Jak wynika z tab. 1, po 10-dniowej inkubacji nie zaobserwowano wystąpienia bombażu w konserwach nr 6 i 7. W konserwie nr 9 zaobserwowano wystąpienie bombażu w 3 puszkach, w konserwie nr 5 w 2 puszkach, a w konserwie nr 10 w 1 puszcze. W pozostałych konserwach stwierdzono wystąpienie bombażu we wszystkich puszkach w okresie 10-dniowej inkubacji.

O mów i e n i e

Wraz ze wzrostem uprzemysłowienia produkcji, wprowadzaniem nowych technologii,

trwalników w produkcie, temperatura i czas sterylizacji, temperatura składowania, stanowią od lat problemy dla technologów i służby sanitarnej (6). W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na pH, potencjał oksydacyjno-redukcyjny, związki chemiczne, jako czynniki wpływające stymulująco lub hamująco na proces kiełkowania przetrwalników laseczek beztlenowych.



Ryc. 1—12. Kiełkowanie przetrwalników *Clostridium botulinum E* w wyciągach z konserw rybnych

Zależność procesu kiełkowania przetrwalników *Cl. botulinum E* w konserwowanych produktach spożywczych od składu recepturalnego poddano badaniu przez wprowadzenie do wnętrza konserw wysoce oczyszczonej zawiesziny przetrwalników. Stosowanie czystej zawiesziny

przetrwalińników dawało pełną gwarancję wyeliminowania rozwoju form wegetatywnych znajdujących się w dawkach hodowli zakażającej, jak i ewentualnego oddziaływania na dynamizm kiełkowania produktów metabolizmu bakteryjnego.

Uzyskane wyniki doświadczeń przeprowadzonych w wyciągach i bezpośrednio w konserwach rybnych stanowią niejako praktyczne uzupełnienie obserwacji procesu kiełkowania *Cl. botulinum* poczynionych przez innych autorów (3, 6, 8). Potwierdzają również obserwacje Strasdine i Kelly (11) przeprowadzone w naturalnych wyciągach z ryb i skorupiaków i wskazujące na różny dynamizm kiełkowania przetrwalińników *Cl. botulinum E* w zależności od rodzaju wyciągu.

Nielsen i Petersen (7) zwrócili uwagę na hamujący wpływ formaldehydu zawartego w tkankach wędzonych ryb na omawiany proces. Równie hamujący wpływ obserwowali Foster i Wynne (4) odnośnie do nienasyconych kwasów tłuszczowych. Nielsen i Petersen (7) sugerują, że różne artykuły żywnościowe zawierają naturalnie lub sztucznie wprowadzone związki, które w odpowiednich stężeniach mogą hamować kiełkowanie i wzrost *Cl. botulinum*. Wniosek ten jest zgodny z wynikami badań własnych nad kiełkowaniem przetrwalińników *Cl. botulinum E* w konserwach rybnych.

Uzyskane wyniki termostatowania zakażonych przetrwalińnikami konserw potwierdzają obserwacje poczynione w badaniach na zakażonych wyciągach wodnych. Wyniki te pozwalają stwierdzić, że przetrwalińniki pozostałe po procesie sterylizacji natrafiają na różne warunki ułatwiające lub hamujące proces kiełkowania. Ogólnie można przyjąć, że w konserwach z zalewą pomidorową przetrwalińniki znajdują bardziej sprzyjające warunki do kiełkowania, niż w konserwach o ostrych przyprawach (musztarda, papryka), gdzie proces ten jest wyraźnie hamowany. Rozpracowanie tego zjawiska może stać się pomocną wskazówką dla producentów i nadzo-

ru WIS w ustalaniu barier technologiczno-sanitarnych ograniczających niebezpieczeństwo zatruc botulinowych.

Wnioski

1. Stwierdzono różny dynamizm kiełkowania przetrwalińników *Cl. botulinum E* w badanych konserwach rybnych.

2. Filety śledziowe w sosie musztardowym (nr 6), Flądra w oleju aromatyzowanym z papryką i cebulą (nr 7), a szczególnie Paprykarz szczeciński (nr 10) stanowią niesprzyjające środowisko do kiełkowania przetrwalińników *Cl. botulinum E*.

3. Flądra w sosie pomidorowym (nr 1), Filety śledziowe w sosie pomidorowym (nr 2), Filety z makreli w sosie pomidorowym (nr 3 i 4), Filety śledziowe w oleju aromatyzowanym (nr 8), Sałatka z makreli (nr 11), Karp faszerowany (nr 12), stanowią sprzyjające środowisko dla kiełkowania przetrwalińników *Cl. botulinum E*.

4. Czynniki ułatwiające lub hamujące proces kiełkowania przetrwalińników *Cl. botulinum E* uzależnione są prawdopodobnie od składu recepturalnego konserw rybnych.

5. Dynamizm kiełkowania przetrwalińników *Cl. botulinum E* obserwowany w wyciągach wodnych jest zgodny z dynamizmem kiełkowania w samych konserwach.

Piśmiennictwo

1. Ando Y., Iida H.: Jap. J. Microbiol. 14, 361, 1970.
2. Cann D. C., Wilson B. B., Hobbs G., Sheran J. M.: Botulizm 1966, Chapman and Hall, Londyn, 1967.
3. Hitzman D. O., Halvorson H. O., Ukita T.: J. Bacteriol. 74, 1, 1957.
4. Foster J. W., Wynne E. S.: J. Bacteriol. 55, 495, 1948.
5. Konserwy mięsne i drobiowe: Badania trwałości metodą termostatową PN-59-A-820036.
6. Leisner L.: Arch. Lebensmittelhig. 21, 145, 1970.
7. Nielsen F. S., Petersen H. O.: Botulizm 1966, Chapman and Hall, Londyn, 1967.
8. Plunick H., Bird H.: Food Technol. 19, 132, 1965.
9. Rowley D. B., Fecherry F.: J. Bacteriol. 104, 1151, 1970.
10. Strasdine G. A., Melville J.: J. Fish Res. Board Can. 25, 547, 1968.
11. Strasdine G. A., Kelly J. M.: J. Fish Res. Board Can. 24, 1833, 1967.
12. Strasdine G. A.: J. Fish Res. Board Can. 24, 595, 1967.
13. Walker P. D., Batty J.: J. Appl. Bacteriol. 27, 137, 1964.

Adres autora: lek. wet. Andrzej Skoczek, 24-100 Puławy, ul. Czartoryskich 13 m. 14.

FINN M. A., JENKIN H. M.: Działanie cytopatyczne serotypu leptospir patoc i canicola w trzech systemach hodowli komórek nerki. (Cytopathic effects of Leptospira serotypes patoc and canicola in three kidney cell culture systems). Am. J. vet. Res. 34, 669—672, 1973 (5).

Przebadano działanie cytopatyczne Leptospira patoc i Leptospira canicola w hodowlach komórek małpy, świni i chomika z dodatkiem płynu Eagle wzbogaconym w 10% surowicy cielecej. Hodowle prowadzono w temperaturze 37°C. Badane serotypy wywierały działanie cytopatyczne na hodowlę komórek nerki małpy, świni i chomika. Pierwsze objawy lizy komórek obserwowano w zakażonej hodowli komórek nerki płodu chomika (BHK-21) po 26—48 godzinach po zakażeniu. W hodowli komórek nerki prosięcia liza komórek pojawiała się po 72—96 godzinach po zakażeniu hodowli.

Z.

MATSON D. E.: Naturalne zakażenie cieląt adenowirusem bydła. (Naturally occurring infection of calves with a bovine adenovirus). Am. J. vet. Res. 34, 623—629, 1973 (5).

Prześlędzono przebieg naturalnego zakażenia nowonarodzonych cieląt w okresie 4 lat w stadzie liczącym średnio 1100 sztuk krów. Choroba występowała zazwyczaj między 3 i 4 tygodniem wycieleń i objawiała się szybko postępującym wyciekaniem z oczu i nosa, wzdęciami, kolką i biegunką. Większość cieląt zapadała w wieku 1—4 tygodni życia. Cielęta w wieku do 1 tygodnia zupełnie nie chorowały. Wirus wyizolowano z worka spojówkowego, jamy nosowej i zatoki migdałkowej, nie wyosobniono go natomiast z kału chorych sztuk. Zakażenia obserwowano nawet u cieląt karmionych siarą zawierającą przeciwciała swoiste dla wirusa. Badania wirusologiczne i serologiczne wykazały, że zakażenia dróg oddechowych u cieląt były wywołane przez adenowirusy.

Z.