

# HIGIENA I TECHNOLOGIA ŚRODKÓW SPOŻYWCZYCH

JERZY ZAHACZEWSKI, ANDRZEJ KOMOROWSKI

## Beztlenowe laseczki lipolityczne w mączkach rybnych

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Krakowie  
Kierownik: doc. dr A. RAMISZ

Nowoczesne metody hodowli drobiu opierają się na żywieniu paszami przemysłowymi. Podstawowym źródłem tłuszczu zwierzęcego w mieszankach paszowych dla drobiu jest mączka rybna. Udział mączki rybnej w tych paszach wynosi od 4 do 7% składu. Ponadto, mączka rybna zawiera duże ilości białka, soli wapniowych i fosforanowych oraz jodu. Zawartość tłuszczu w mączkach rybnych jest wysoka i wynosi do 25% składu. Tłuszcz ten posiada bardzo wysoką wartość energetyczną, jest też źródłem witamin A i D, a także egzogennych, nienasyconych kwasów tłuszczowych. Tłuszcze przechowywane w niekorzystnych warunkach podlegają jęczeniu. Proces ten, zachodzący w mączkach rybnych może być spowodowany przez czynniki biologiczne (9) i fizyko-chemiczne (9, 13). Czynniki biologicznymi są enzymy, zaś do najważniejszych czynników fizyko-chemicznych odgrywających rolę w procesie jęczenia zaliczyć należy: tlen atmosferyczny, podwyższoną wilgotność i temperaturę, światło słoneczne oraz jony metali (m.in. Cu i Fe). Zaznaczyć należy, że niektóre z tych metali odgrywają ważną rolę w żywieniu zwierząt jako nieodzowne dla ich organizmu mikroelementy.

W jęczeniu tłuszczu podstawowym enzymem inicjującym ten proces jest lipaza. Źródłem tego enzymu mogą być tkanki, bakterie i grzyby. Z bardziej znanych drobnoustrojów produkujących lipazę wymienić należy: gronkowce, pałeczki *Pseudomonas*, laseczki tlenowe i beztlenowe, pleśnie z rodzaju *Oidium*, *Penicillium* i *Cladosporium*. Innymi enzymami uczestniczącymi również w jęczeniu tłuszczów są lipooksydaza, peroksydaza i lecytynaza.

Działanie lipazy polega na hydrolitycznym rozkładzie estrów glicerolowych kwasów tłuszczowych. W wyniku tej reakcji uwalniane są kwasy tłuszczowe i glicerol. Związki te podlegają dalszym przemianom, których charakter zależy od obecności w/w enzymów oraz istniejących warunków fizyko-chemicznych. W przebiegu tych przemian mogą powstawać związki aldehydowe lub ketonowe.

Zjełczałe tłuszcze przedstawiają niewielką wartość odżywczą, a w przypadku daleko posuniętego rozkładu mogą być szkodliwe dla

karmionych nimi zwierząt. Prace Szczygła (12) oraz innych autorów (2, 7, 8) przeprowadzone na zwierzętach laboratoryjnych i domowych karmionych paszą zawierającą zjełczałe tłuszcze, dowodzą toksycznego ich działania. Badania ostatnich lat (1, 3, 4, 11) nad zależnością pomiędzy żywieniem zwierząt karmią ze zjełczalymi tłuszczami, a awitaminozami, wydają się potwierdzać ten związek.

Lipaza jest enzymem posiadającym podstawowe znaczenie dla trwałości oraz wartości tłuszczów mączek rybnych. Przedmiotem pracy autorów były badania bakteriologiczne mączek rybnych w kierunku obecności drobnoustrojów wytwarzających ten enzym. W dostępnym piśmiennictwie spotkaliśmy niewielką ilość danych dotyczących badań mikrobiologicznych mączek rybnych (6, 10). Przedmiotem tych prac były głównie chorobotwórcze drobnoustroje tlenowe, zwłaszcza z rodzaju *Salmonella*. Zagadnienie zakażenia morskich ryb tlenowymi drobnoustrojami lipolitycznymi omawia w swojej pracy Giolitti (5). Celem naszej pracy było stwierdzenie obecności lipolitycznych laseczek beztlenowych oraz ich wpływu na trwałość i przydatność biologiczną tłuszczów zawartych w mączkach rybnych. Publikacja ta stanowi pierwszy etap szerzej zaplanowanych prac nad tym zagadnieniem.

### Materiał i metody

#### 1. Mączki rybne.

Przebadano 100 próbek mączek rybnych importowanych z Danii, Islandii, Norwegii i Peru. Mączki pobierano w Wytwórni Pasz Bacutil w Krakowie. Badania chemiczne i mikrobiologiczne w kierunku drobnoustrojów tlenowych prowadzone były w innych Pracowniach naszego Zakładu.

Próbki mączek rybnych o wadze ok. 5 g posiewano na bulion Wrzoska z glukozą. Ze względu na duże zakażenie mączek drobnoustrojami tlenowymi, buliony po posiewie pasteryzowano przez 20 min. w temperaturze 80°C. Podłoże inkubowano w temperaturze 37°C przez okres 24 godzin. Z pożywek, na których stwierdzano zmętnienie i wydzielanie gazu — wykonywano preparaty mikroskopowe. W wypadku stwierdzenia obecności Gram-dodatnich laseczek, przesiewano je na podłoże Willisa-Hobbs i inkubowano płytki w temperaturze 37°C, w warunkach beztlenowych przez 48 godzin. Równoległe do posiewów w warunkach beztlenowych, przeprowadzano kontrolę wzrostu w warunkach tlenowych na podłożu agarowym z krwią.

## 2. Szczepy bakteryjne.

Wyhodowane w warunkach beztlenowych na podłożu Willisa-Hobbs kolonie laseczek poddawano wstępnej ocenie makroskopowej. Zwracano uwagę na kształt i wielkość kolonii oraz zdolność wytwarzania enzymów: lecytynazy, lipazy, laktazy i proteinazy. Typowe pod względem morfologicznym i biochemicznym kolonie kontrolowano mikroskopowo i w wypadku stwierdzenia laseczek Gram-dodatnich — przesiewano na bulion Wrzoska. Z podłoży płynnych po 24-godzinnej inkubacji wykonywano preparaty i oceniano w kropli wiszącej ruch drobnoustrojów przy pomocy mikroskopu fazowo-kontrastowego. Równolegle wysiewano szczepy na agar Zeisslera i badano zdolność rozkładu czterech cukrów: glukozy, laktozy, sacharozy i maltozy, a także wytwarzanie indolu, siarkowodoru i żelatynazy.

Do oceny zdolności rozkładu cukrów używano półpłynnego agaru z 1% dodatkiem odpowiedniego cukru. Kontrolę fermentacji cukrów przeprowadzano po 48 godzinnej inkubacji, metodą płytkową, przy użyciu 1% alkoholowego roztworu błękitu bromotymolowego.

Zdolność wytwarzania indolu sprawdzano na wodzie peptonowej z 1% dodatkiem tryptofanu, siarkowodoru — na podłożu Wilson-Blaira, a żelatynazy na 10% żelatynie.

Własności chorobotwórcze szczepów laseczek beztlenowych były sprawdzane w teście biologicznym na białych myszkach o wadze ok. 20 g. Myszkom wstrzykiwano dootrzewnowo po 0,3 ml kultury z bulionu Wrzoska. Obserwację prowadzono przez okres 7 dni.

## Wyniki

Na 100 przebadanych próbek mączek rybnych w 81 próbach stwierdzono obecność jednorodnych pod względem morfologicznym, biochemicznym i biologicznym laseczek beztlenowych. Drobnoustroje te na podłożach płynnych wykazywały intensywny wzrost. W preparatach mikroskopowych wykonanych z tych podłoży stwierdzano obecność nieurzęsionych, długich laseczek Gram-dodatnich. Zarodniki umieszczone subterminalnie pojawiały się od trzeciego dnia hodowli.

Na podłożu stałym Willisa-Hobbs obserwowano po 48 godzinnej inkubacji wzrost kolonii płaskich, o nieregularnych brzegach. Wokół kolonii stwierdzano wąską strefę lecytynazy i szeroką, sięgającą daleko poza kolonię strefę „warstwy perłowej” — świadcząca o zdolności wytwarzania lipazy. W większości przypadków kolonie były zabarwione na kolor różowy. Nigdy nie stwierdzano obecności proteinazy. Mikroskopowo nie stwierdzano różnic morfologicznych między laseczkami z podłoża Willisa-Hobbs i bulionu Wrzoska. Na agarze Zeisslera drobnoustroje rosły w warunkach beztlenowych podobnie jak na podłożu Willisa-Hobbs w postaci kolonii płaskich, o nieregularnych brzegach. Tylko 10 szczepów wytwarzało niewielką ilość hemolizyny — wokół kolonii stwierdzano wówczas strefę hemolizy beta. Preparaty mikroskopowe wykonywane z kolonii rosnących na podłożu Zeisslera przedstawiały inny obraz aniżeli preparaty z podłoża Willisa-Hobbs. Stwierdzano bardzo długie, nitkowate laseczki łączące się w pasma. Barwiły się one Gram-dodatnio i zawierały zarodniki dopiero po trzech dniach inkubacji.

Drobnoustroje w warunkach tlenowych na agarze z krwią nie rosły. Wszystkie badane

szczepy rozkładały glukozę i maltozę, nie wytwarzały indolu i żelatyny. Spośród 81 badanych szczepów — 6 produkowało siarkowodor w ilościach śladowych.

Badaniem biologicznym nie stwierdzono właściwości chorobotwórczych izolowanych szczepów.

## Wnioski

1. W badaniach bakteriologicznych mączek rybnych, prowadzonych w warunkach beztlenowych stwierdzono w 81% przebadanych próbek obecność jednolitej pod względem morfologicznym, biochemicznym i biologicznym flory bakteryjnej.

2. Na podstawie przeprowadzonych badań, wszystkie wyizolowane szczepy laseczek beztlenowych zaliczono do rodzaju *Clostridium*. Jednakże, właściwości biochemiczne badanych laseczek nie były typowe dla gatunków wymienionych w tabeli Willisa (14). Przemawia to za odrębnością gatunkową tych drobnoustrojów.

3. Izolowane szczepy laseczek beztlenowych posiadały bardzo silne właściwości lipolityczne.

4. Autorzy przypuszczają, że obecność lipolitycznych laseczek beztlenowych w mączkach rybnych może być jednym z istotnych czynników powodujących biologiczny rozkład tłuszczu. Zagadnienie to będzie przedmiotem dalszych badań.

## Piśmiennictwo

1. Brubacher G. i wsp.: Z. Ernähr. Wiss. 17, 190, 1965.
2. Bubiń Z., Wartenberg L.: Medycyna Wet. 21, 517, 1965.
3. Dam H.: Witaminy w karmieniu sielskochozajstwiennych zwierząt i ptic. Moskwa „Kłos” 1970.
4. Faruga A.: Drob. 18, 6, 10, 1970.
5. Giolitti G.: Anns. Inst. Pasteur Lille 15, 235, 1964.
6. Gronek W., Gronek H.: Biul. IV Zjazdu PTWN, Warszawa, 1970.
7. Kaszubkiewicz C., Wartenberg L.: Medycyna Wet. 13, 228, 1957.
8. Kaszubkiewicz C., Wartenberg L.: Medycyna Wet. 17, 166, 1961.
9. Podkówa W., Orlik A.: Biul. Inf. Przem. Pasz. 2, 58, 1971.
10. Mossel D. D.: Arch. Lebensmittelhyg. 9, 3, 1958.
11. Sobiepanek M.: Drob. 14, 7, 11, 1966.
12. Szczygiel A.: Podstawy fizjologii żywienia, PZWL, 1956.
13. Wartenberg L., Monkiewicz J.: Medycyna Wet. 23, 515, 1967.
14. Willis A. T.: Anaerobic Bacteriology in Clinical Medicine London Butterworths, 1964.

Adres autora: dr Jerzy Zahaczewski, Kraków, ul. Brodowicza 13a, ZHW.

**CULTIP R. C., SHURMAN R. D.: Wrażliwość królików na zakażenie paciorkowcami z grupy E. Lancefield. (Susceptibility of rabbits to infection with Lancefield's group E streptococci).** Cornell Vet., 61, 616—617, 1971 (4).

Króliki rasy Nowozelandzkiej zakażono dożylnie 18 godz. hodowlą paciorkowca z grupy serologicznej E wg. Lancefield (szczep 3 x 29A) w ilości  $7,4 \times 10^4$  jednostek tworzących kolonie. U zakażonych sztuk wystąpiło ośpienie, utrata łaknienia i kulawizna. Jedyne z krwi pobranej z serca od jednego osobnika wyizolowano paciorkowce. U wszystkich zakażonych zwierząt na sekcji notowano włóknikowo-ropne zapalenie kości i stawów oraz zapalenie stawów kręgosłupa. Proces zapalny powodował uszkodzenie stawów i rozprzestrzeniał się na przylegające mięśnie wzdłuż pochewek ścięgniętych. W odczynie precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym wyniki dodatnie uzyskano jedynie w przypadku użycia jako antygeny zagełowanej hodowli paciorkowców użytych do zakażenia. W tym odczynie nie reagowały zupełnie wyciągi formamidowe sporządzone wg met. Fullera.

z.