

nie stwierdzono istotnych różnic w poziomie dwuacetylu w maśle przechowywanym w temp. 0°C i -8°C. Natomiast w maśle przechowywanym w +20°C zaznaczył się następny istotny spadek zawartości dwuacetylu w 28 dniu przechowywania. Wskazuje to na wyraźny wpływ temperatury przechowywania masła na obniżanie się poziomu dwuacetylu, co wykazano już z porównania średnich ogólnych dla poszczególnych temperatur.

Porównanie wyników oznaczeń chemicznych z wyczuwalnością organoleptyczną dwuacetylu, potwierdza w pewnym stopniu zgodność wyników obu metod. Wyczuwalność sensoryczna dwuacetylu spadała jednakże szybciej w temp. +20°C niż w temp. 0°C i -8°C. Porównanie wartości poziomów dwuacetylu oznaczonych chemicznie ze stopniem jego wyczuwalności sensorycznej pozwala sądzić, że obie metody nie znajdują całkowitego pokrycia w wykrywalności tego związku. Sprawa korelacji wyników obu metod nie wchodząca w zakres badań własnych, jest jednakże osobnym i wartym opracowania zagadnieniem.

Wnioski

1. W ciągu przechowywania masła następuje spadek poziomu dwuacetylu, przy czym krytycznym okresem jest 4 dzień przechowywania; spadek ten następuje w maśle przechowywanym w każdej temperaturze.

2. Na poziom dwuacetylu i jego zmienność istotny wpływ wywiera temperatura przechowywania masła. W temp. 0°C i poniżej, utrzymuje się wyższy poziom dwuacetylu w czasie przechowywania masła niż w temperaturze +20°C.

Piśmiennictwo

1. Jesiak H., Kiszka J.: Prz. mlecz. 8, 18, 1960.
2. Karnicka H., Zalewska E.: Prz. mlecz. 10, 2, 1962.
3. Kiszka J., Batura K.: Zesz. Nauk WSR Olsztyn, 25, 423, 1969.
4. Kurpisz W.: Ocena organoleptyczna produktów mleczarskich ZW, CRS 1968.
5. Pijanowski E.: Zarys chemii i technologii mleczarstwa, t. II. PWRiL, 1974.
6. Pijanowski E., Bijok F., Antczak R., Kosowski M.: Przem. spoż. 14, 393, 1960.
7. Pijanowski E., Szytner M., Wojtowiczowa M.: Prz. mlecz. 19, 14, 1970.
8. Polska Norma PN-65/A-66155 Masło — mleko i przetwory mleczarskie.
9. Polska Norma PN-67/A-66207 Masło — metody badań chemicznych.

Adres autora: doc. dr habil. Janina Trawińska, ul. Ponia-towskiego 4/94, 20-060 Lublin.

KAZIMIERA SYLWESTER, EUGENIUSZ GAJOS

Dynamizm rozwoju *Staph. aureus* i *Bac. cereus* w pasteryzowanych wodnych wyciągach z mięsa śledzi

Z Instytutu Higieny Produktów Zwierzęcych
Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Z Instytutu Technologii Przemysłu Chemicznego
i Spożywczego AE we Wrocławiu

Do najbardziej rozpowszechnionych obecnie zatruc pokarmowych u ludzi należą schorzenia wywołane przez enterotoksyczne gronkowce. Jest to wynikiem dużego rozpowszechnienia tych drobnoustrojów w przyrodzie, zwiększającego możliwość zakażenia surowca (1, 5, 6, 10, 12) oraz częstego ich nosicielstwa u ludzi pracujących w przemyśle spożywczym, powodujących wtórne zakażenie wytworzonych produktów (11).

Nie mniej ważną rolę w dziedzinie zatruc pokarmowych odgrywa też tlenowa laseczka przetrwalnikująca *Bacillus cereus*. Jest ona również bardzo rozpowszechniona w przyrodzie, może powodować zakażenie surowca (6), a dzięki wytwarzanym przetrwalnikom, opornym na wiele czynników fizyko-chemicznych, staje się problemem dla przemysłu spożywczego a szczególnie konserwowego.

W obu tych przypadkach najczęściej przyczyną zatrucia były lody, kremy, ciastka, przetwory mleczne, wyroby garmażeryjne, zakażone tymi drobnoustrojami, przechowywane w warunkach umożliwiających silne ich namnożenie.

W piśmiennictwie spotyka się niewiele danych na temat zatruc pokarmowych wywołanych

przez *Bacillus cereus* lub *Staphylococcus aureus*, występujących w śledziach lub ich przetworach, mimo wielu możliwości zakażenia ich tymi bakteriami (6). Dlatego też postanowiono zbadać dynamizm rozwoju wybranych szczepów bakteryjnych we wzorcowym materiale, jakim były wodne wyciągi z mięsa śledzi. Ze względu na to, że w produkcji przetworów ze śledzi stosowane są różnie wysokie temperatury, wymagane dla otrzymania określonych asortymentów, w przedstawionych doświadczeniach wodne wyciągi z mięsa śledzi poddawano działaniu różnych temperatur, podobnych do tych jakie stosowane są w przetwórstwie rybnym. Wyciągi te następnie zakażano określonymi dawkami bakterii. Postępowanie takie miało na celu stwierdzenie wpływu podwyższonej temperatury na zawartość rozpuszczalnych białek w wyciągach i badanie dynamizmu rozwoju wybranych szczepów bakteryjnych w warunkach wytworzonych po pasteryzacji wyciągów.

Założenie tych doświadczeń wynikało z faktu, że temperatury stosowane w procesach technologicznych nie zawsze niszczą wszystkie drobnoustroje obecne w surowcu wyjściowym. Przy popełnianych błędach higienicznych gotowe

produkty mogą być wtórnie zakażone przez *Staphylococcus aureus* lub *Bacillus cereus* i w odpowiednich warunkach stać się przyczyną pokarmowych zatruc konsumentów.

Materiał i metody

1. Świeże śledzie bałtyckie,
2. Szczepy bakteryjne: *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus*, wyizolowane ze środków spożywczych,,
3. Pasteryzowane wodne wyciągi z mięsa śledzi.

Wodne wyciągi przygotowywano z rozdrobnionych śledzi w proporcji 1:2. Po 24 godzinnej ekstrakcji w temperaturze +4°, oddzielano sączeniem części nierozpuszczalne, a do dalszych badań używano wyciągów zupełnie przejrzystych. Doświadczenie wykonywano wg następującego schematu:

1. Badanie dynamizmu rozwoju wybranych bakterii w wyciągach zawierających resztkową mikroflorę pierwotną śledzi, pozostałą po zastosowanej pasteryzacji. Przygotowane uprzednio wodne wyciągi z mięsa śledzi rozdzielano miarowo do szeregu probówek o wymiarach 20x2x0,2 cm i ogrzewano w łaźni wodnej w ciągu 20 minut. Stosowano przy tym różne temperatury, w zakresie od 40° do 100° z odstępami co 10°. Po zakończonym ogrzewaniu wyciągi natychmiast schładzano, zakażano jednakową ilością zawiesiny 24-godzinnej hodowli *Staphylococcus aureus* albo *Bacillus cereus* w płynie fizjologicznym, rozdzielano po 1 ml do szeregu probówek i pozostawiano w temperaturze pokojowej przez cały czas trwania doświadczenia. Dynamizm rozwoju wybranych drobnoustrojów badano przy pomocy ilościowych posiewów na stałych podłożach wybiórczych. Posiewy wykonywano po upływie 1, 2, 4, 8 oraz 24 godzin od momentu zakażenia wyciągów. Inkubowano je w ciągu 24 godzin w temperaturze 37°, a potem przetrzymywano przez następne 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym okresie

czasu obliczano ilość wyhodowanych kolonii bakteryjnych.

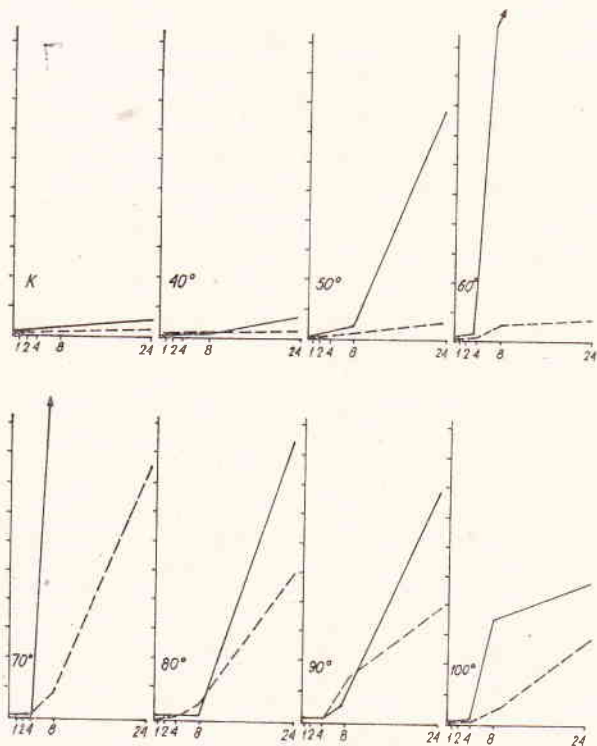
2. W podobny sposób wykonano drugą serię doświadczeń, w których przejrzyste wyciągi przesączaano przez filtr Seitza, celem zupełnego uwolnienia się od pierwotnej mikroflory badanego mięsa. Wyciągi wyjałowione w ten sposób pasteryzowano, zakażano i badano mikrobiologicznie w sposób opisany w punkcie poprzednim.

Celem badania było ustalenie dynamizmu rozwoju wybranych bakterii w jałowych wyciągach, nie zawierających pierwotnej mikroflory śledzi.

3. W pasteryzowanych wodnych wyciągach z mięsa śledzi określano ilość oraz rodzaj zawartych w nich białek. Ogólną ilość białek rozpuszczalnych w wyciągach oznaczano metodą Lowery (9). Metodą elektroforezy agarowej wyznaczano na podstawie wykresów densytometrycznych obecność oraz zawartość białek anodowych i katodowych (2, 4).

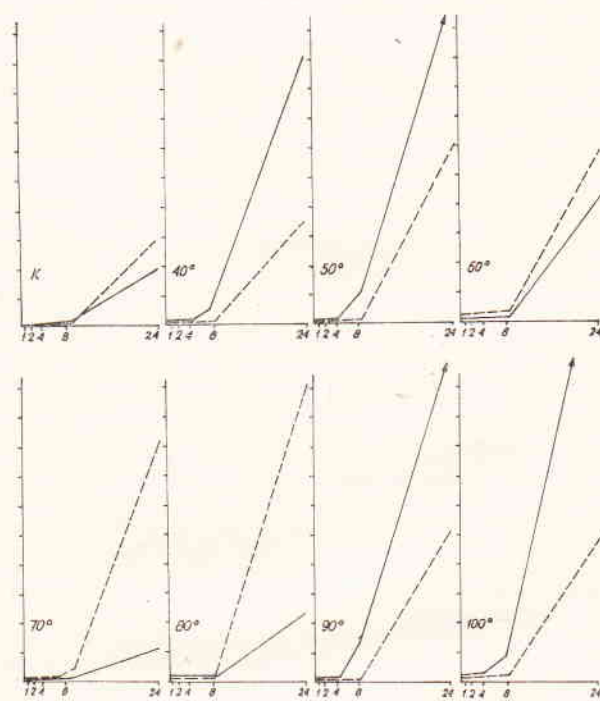
Wyniki i omówienie

Otrzymane wyniki badań bakteriologicznych obrazują ryc. 1 i 2. Przedstawiono na nich dynamizm rozwoju badanych szczepów bakteryjnych w wyciągach wodnych z mięsa śledzi, podanych pasteryzacji w różnych temperaturach. Wyciągi te zawierały mikroflorę pierwotną śledzi (ryc. 1) albo były wyjałowione sączeniem przez filtr Seitza (ryc. 2). Uzyskane wyniki przedstawiono nie w postaci bezwzględnych ilości kolonii bakteryjnych, ale jako proporcje wynikające z porównania danych poszczególnych posiewów. Ilość bakterii zakażających po-



Ryc. 1. Rozwój *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus* w pasteryzowanych wodnych wyciągach śledziowych, zawierających pierwotną mikroflorę śledzia

Objaśnienia: - - - = krzywa wzrostu *Staphylococcus aureus*; ——— = krzywa wzrostu *Bacillus cereus*; cyfry na osi poziomej wykresów oznaczają czas wykonywanych posiewów w godzinach; jedna jednostka na osi pionowej wykresów wyobraża 50-krotne zwiększenie ilości drobnoustrojów.



Ryc. 2. Rozwój *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus* w pasteryzowanych wodnych wyciągach śledziowych w hodowlach wolnych od mikroflory pierwotnej śledzia

Objaśnienia: - - - = krzywa wzrostu *Staphylococcus aureus*; ——— = krzywa wzrostu *Bacillus cereus*; cyfry na osi poziomej wykresów oznaczają czas wykonywanych posiewów w godzinach; jedna jednostka na osi pionowej wykresów wyobraża 500-krotne zwiększenie ilości drobnoustrojów.

czątkowo każdy pasteryzowany wyciąg mięsny przyjęto za 1 i w stosunku do tej wartości obliczono proporcje kolejnych posiewów, przy czym na ryc. 1 jedna jednostka na osi pionowej wyobraża 50-krotne zwiększenie ilości drobnoustrojów, a na ryc. 2 — 500-krotne.

Z rycin tych wynika, że pomimo zakażenia wyciągów pasteryzowanych w różnych temperaturach takimi samymi ilościami badanych szczepów bakteryjnych, dynamizm ich rozwoju jest różny.

W środowisku zawierającym pierwotną mikroflorę śledzi przedstawia się on następująco:

Staphylococcus aureus zarówno w wyciągu nieogrzewanym jak i ogrzewanym w 40° wykazywał bardzo słaby wzrost. Po 24 godzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej jego ilość zwiększała się zaledwie 5 lub 4-krotnie w porównaniu z ilością wyjściową. Bardziej intensywnie rozwija się on w wyciągu ogrzewanym w temperaturze 50 i 60°. W takim środowisku jego ilość zwiększa się 30 i 35-krotnie. We wszystkich tych przypadkach gronkowce adaptują się do podłoża trudno, a w posiewach wykonywanych po 2 godzinach od momentu zakażenia wyciągów, stwierdzano ich ilości mniejsze od wyjściowych.

Zupełnie inaczej przedstawia się dynamizm rozwoju tych bakterii w wyciągach ogrzewanych w temperaturach 70, 80, 90 i 100°. W przeprowadzanych posiewach nie stwierdzono ilości mniejszych od wyjściowych, a zatem łatwiejsza była adaptacja gronkowców w tych środowiskach; 30—60-krotne namnożenie stwierdzano już po upływie 8 godzin od momentu zakażenia wyciągów, a 420 do 140-krotne po 24 godzinach inkubacji. Ze stopnia namnożenia się gronkowców można więc sądzić, że najlepsze warunki do namnażania znajdują one w wyciągu pasteryzowanym w temp. 70°, a coraz mniej dogodne w pasteryzowanych w 80, 90 i 100°.

Bacillus cereus zarówno w wyciągach nieogrzewanych jak i ogrzewanych w 40° adaptuje się trudno, ale po 24 godzinach inkubacji jego ilość jest 24 i 34-krotnie większa od wyjściowej. W wyciągach pasteryzowanych w temperaturach 50—100° adaptacja laseczek jest łatwiejsza. W posiewach nie stwierdzano ilości mniejszych od wyjściowych. Po upływie 24 godzin inkubacji w temperaturze pokojowej otrzymywano ilości bakterii świadczące o silnym dynamizmie wzrostu. Zwiększał się on w wyciągach pasteryzowanych w temperaturach 50, 60 i 70°, w których stwierdzano 400—1360 razy więcej laseczek niż w materiale wyjściowym. W wyciągach pasteryzowanych w temperaturach 80, 90 i 100° dynamizm ten nieco słabnie; po 24 godzinach stwierdzano 460, 400 i 250-krotne zwiększenie ich ilości.

Staphylococcus aureus jak i *Bacillus cereus* w przypadku obecności pierwotnej mikroflory śledzi najintensywniej rozwijały się w wyciągach pasteryzowanych w temperaturze 70°. W ogrzewanym w 80, 90 i 100° nieco słabiej, ale o wiele lepiej niż w wyciągach pasteryzowanych w temperaturach 50 i 60°. Najmniej sprzyjające warunki rozwoju znajdowały te bakterie w wyciągach ogrzewanym w temperaturze 40° lub w ogóle nieogrzewanym. Porównując dynamizm rozwoju obydwu badanych bakterii można stwierdzić, że w opisanych warunkach bardziej żywotną okazała się laseczka *Bacillus cereus*.

Nieco odmiennie rozwijały się badane bakterie w wyciągach wolnych od pierwotnej mikroflory:

Staphylococcus aureus wykazywał bardziej intensywny dynamizm wzrostu niż w poprzednich doświadczeniach. W posiewach kontrolnych nie stwierdzono ilości mniejszych niż wykazywano w materiale wyjściowym; łatwiejsza zatem była ich adaptacja do podłoża i warunków hodowli. Po 24 godzinach inkubacji otrzy-

wano ilości bakterii 1550—5080 razy większe od wyjściowych. Gronkowce najlepiej rozwijały się w wyciągach pasteryzowanych w temperaturze 80 i 70°C; w pasteryzowanych w 90 i 100° rozwój ich był nieco słabszy i podobny do wzrostu w wyciągach ogrzewanym w 60 i 50°. Najslabszy dynamizm wzrostu wykazuje gronkowiec w wyciągu ogrzewanym w temperaturze 40° i w nieogrzewanym, chociaż ilość namnożonych bakterii znacznie przewyższa ilości otrzymane w poprzedniej części doświadczeń.

Bacillus cereus w pierwszym posiewie kontrolnym z wyciągu nieogrzewanego wykazuje ilość mniejszą od wyjściowej, natomiast w posiewach z wyciągów ogrzewanym takiego stanu nie stwierdzono. Adaptacja tego drobnoustroju była więc trudna tylko w wyciągu nie pasteryzowanym, ale wyraźne zwiększenie się ilości laseczek po 8 godzinach inkubacji stwierdza się tylko w wyciągach pasteryzowanych w temperaturze 40, 50, 90 i 100°. W pozostałych środowiskach pasteryzowanych dynamiczny rozwój tych bakterii stwierdzano dopiero po upływie 24 godzin inkubacji. W ostatecznym jednak rezultacie w wyciągach pasteryzowanych w temperaturze 60, 70 i 80° rozwój *Bacillus cereus* jest mało intensywny, a najslabszy w wyciągu ogrzewanym w 70°.

Oznaczenie ogólnej ilości białek rozpuszczalnych w badanych wyciągach wykonano metodą Lowery i uzyskano następujące wyniki: w wyciągach niepasteryzowanych stężenie ich wynosiło 25 mg/ml, po 20 minutach ogrzewania w temperaturze 40° ich poziom obniżył się do 56% ilości wyjściowej. W wyciągach ogrzewanym w temperaturze 50° pozostawało ich 32%, w 60° ogrzewaniu już tylko 20%. Ogrzewanie w temperaturze 70 i 100° powodowało zmniejszenie ilości rozpuszczalnych białek w granicach 16 do 12%. Pomimo ogrzewania w temperaturze 100° w wyciągach pozostawały jeszcze białka rozpuszczalne w ilości 3 mg/ml (tab. 1).

Tab. 1. Zawartość białek rozpuszczalnych, anodowych i katodowych w pasteryzowanych wyciągach z mięsa śledzi

Temperatura pasteryzowania wyciągów	Białka		
	rozpuszczalne w mg/ml	katodowe w %	anodowe w %
wyciąg nieogrzewany	25,0	100	100
„ ogrzewany w 40°	14,0	88	80
„ „ 50°	8,0	54	77
„ „ 60°	5,0	19	68
„ „ 70°	4,0	17	66
„ „ 80°	3,0	16	62
„ „ 90°	3,0	15	51
„ „ 100°	3,0	12	44

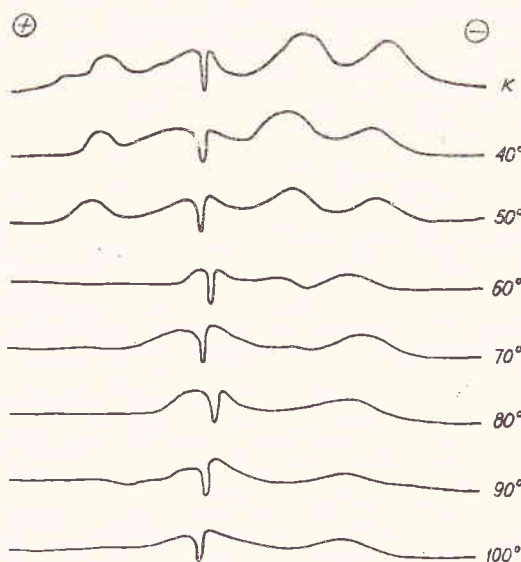
Badaniem elektroforetycznym w żelu agarowym stwierdzono w wyciągach obecność białek migrujących do anody i do katody. Wyliczone ich proporcje wynosiły 1,5:1. Ciepłooporność każdego z tych rodzajów białek wyznaczano ilościowo z densytogramów, przy czym ilość białek stwierdzoną w wyciągach nieogrzewanym przyjęto za 100% (ryc. 3 i tab. 1). W miarę podwyższania temperatury pasteryzacji wyciągów obserwowano większą ciepłochwiejność białek katodowych niż anodowych. Różnice te zaznaczyły się w temperaturze 50°. Ogrzewanie wyciągów w temperaturze od 50 do 100° bardzo wyraźnie obniżyło poziom białek katodowych — z 54 do 12%, natomiast mniej intensywnie białek anodowych — z 77 do 44%.

Na podstawie otrzymanych wyników badań bakteriologicznych oraz analizy rozpuszczalnych białek mięsa śledzi można stwierdzić, że dynamizm rozwoju *Staphylococcus aureus* i *Bacillus*

cereus w wyciągach pasteryzowanych w różnych temperaturach wynika z biochemicznych właściwości danych szczepów bakterii, ich zdolności namnażania się w obecności innych drobnoustrojów oraz ilości rozpuszczalnych białek obecnych w wyciągach.

Staphylococcus aureus trudniej adaptuje się w środowisku zawierającym pierwotną mikroflorę śledzi (ryc. 1), natomiast bardziej intensywnie rozwija się w środowisku wolnym od innych drobnoustrojów. Najmniej intensywny wzrost obserwowano w wyciągach nieogrzewanych i ogrzewanych w temp. 40°, najbardziej silny natomiast w wyciągach pasteryzowanych w temperaturze 70 i 80°.

Bacillus cereus wykazuje nieco bardziej intensywny dynamizm wzrostu w obecności pierwotnej mikroflory śledzi, aniżeli w środowisku wolnym od niej, podobnie jak to obserwowano w przypadku *Streptococcus faecalis* (3). W obu jednak środowiskach szczep ten wykazuje większą żywotność niż *Staphylococcus aureus*.



Ryc. 3. Densytometryczne wykresy ogrzewanych rozpuszczalnych białek śledzi, rozdzielonych metodą elektroforezy agarowej

Przedstawione spostrzeżenia mogłyby w pewnym stopniu tłumaczyć występowanie zatruc pokarmowych po spożyciu produktów rybnych, poddanych uprzednio w czasie produkcji działaniu różnie wysokich temperatur i przetrzymywanych w temperaturze pokojowej przez dłuższy okres czasu (7, 8). Może to nastąpić na skutek niepełnego wyjałowienia surowca, zakażonego tymi drobnoustrojami pierwotnie, albo na skutek wtórnego zakażenia gotowych, źle przechowywanych produktów rybnych.

Wnioski

1. Produkty śledziowe nieogrzewane lub ogrzewane w temperaturze 40° są podłożem najmniej

przyjającym rozwojowi *Staphylococcus aureus*. Przetwory śledziowe pasteryzowane w temperaturze 70 i 80°, wtórnie zakażone gronkowcami, przechowywane w temperaturze pokojowej przez 24 godziny, są najlepszym podłożem dla namnażania się tych bakterii i mogą stać się przyczyną zatrucia pokarmowego.

2. Obecność pierwotnej mikroflory mięsa śledzi zmniejsza dynamizm rozwoju *Staphylococcus aureus*. W wyciągach wolnych od tych drobnoustrojów tylko w środowisku pasteryzowanym w 60, 70 i 80° *Staphylococcus aureus* jest bardziej żywotny niż *Bacillus cereus*.

3. Bardziej intensywny rozwój laseczki *Bacillus cereus* w porównaniu ze *Staphylococcus aureus* najprawdopodobniej wynika z jej silniejszych właściwości proteolitycznych, ułatwiających szybsze dostosowanie się do środowiska i obfitsze namnażanie, a obecność pierwotnej mikroflory śledzi wydaje się wzmacniać intensywność rozwoju tej laseczki.

4. Podwyższenie temperatury pasteryzacji wodnych wyciągów z mięsa śledzi zmniejsza w nich zawartość białek rozpuszczalnych.

Piśmiennictwo

1. Bykowski P., Sikorski Z., Zimińska H.: Technologia żywności pochodzenia morskiego. WNT 1971.
2. Gajos E.: Arch. Lebensmittelhyg. 25, 250, 1974.
3. Gajos E., Sylwester K.: Mikrobiologiczne i fizyko-chemiczne badanie śledzi. II. Zachowanie się wskaźników sanitarnych — *E. coli*, *Pr. vulgaris*, *Str. faecalis* — w pasteryzowanych wyciągach ze śledzi. Zeszyty Naukowe A.E. Wrocław 1976 (w druku).
4. Grabar P., Burtin P.: Analyse immuno-electrophoretique. Masson et Cie 1960.
5. Jordan-Burows: Am. J. Hyg. 20, 604, 1934.
6. Kietzmann C., Priebe K., Rakow D., Reichstein K.: Seefisch als Lebensmittel. Paul Parey 1969.
7. Lerche M., Rievel H., Goertler V.: Lehrbuch der Tierärztlichen Lebensmittelüberwachung. Verlag M. H. Schaper 1957.
8. Meyer F.: Dt. tierärztl. Wschr. 56, 326, 1949.
9. Mejsbaum-Katzenellenbogen W., Mochacka I.: Kurs praktyczny biochemii. PWN 1969.
10. Shewan J.: Chemy Ind. 6, 193, 1970.
11. Turzecki J.: Hyg. u. Sanitätswes. 4, 30, 1940. Ref. Zentbl. Bakt. ParasitKde. 149, 319, 1951.
12. Chodyniecki A., Zaleski S.: Zentbl. Bakt. ParasitKde I Orig. 196 A. 452, 1965.

Adres autora: dr Kazimiera Sylwester, ul. Klary Zetkin 48/8, 50-310 Wrocław.

Сыльвэстэр К., Гаюс Э. — Динамика размножения бактерий *Staphylococcus aureus* и *Bac. cereus* в пастеризованных водяных вытяжках из сельдей.

Исследования провели на вытяжках пастеризованных в температуре от 40° до 100° в присутствии первоначальной микрофлоры и на стерилизованных вытяжках. В вытяжках определили также уровень растворимых белков. Установили, что этот уровень зависит от температуры нагревания.

Sylwester K., Gajos E. — Dynamics of the development of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in pasteurized water extracts from herring meat.

In the article the authors presented data regarding the dynamics of the development of *Staph. aureus* and *B. cereus* in the extracts from herring meat pasteurized at different temperatures from 40°C to 100°C. The dynamics of multiplication was determined in the presence of primary microflora and also in sterilized extracts. The concentration of protein was estimated. The dynamics depended on the temperature of heating.