

24. Pezacki W.: Technologiczne odchylenia jakości wyrobów mięsnych. PWRiL, 1968.
25. Roberts T. A.: J. appl. Bact. 31, 133, 1968.
26. Roberts T. A., Ingram M., Skulberg A.: J. appl. Bact. 28, 125, 1969.
27. Rymkiewicz D., Switalska A., Trembowlar P.: Wyd. Metod. PZH 1, 1972.
28. Rymkiewicz D.: Endospory patogennych przedstawicieli rodzaju Clostridium. Praca hab. PZH, 1973.
29. Sawow D.: Vet. Med. Nauki, Sof. 7, 39, 1970.
30. Sikorski Z. E.: Technologia żywności pochodzenia morską, WNT 1971.
31. Skoczek A.: Pol. Arch. wet. 19, 345, 1976.
32. Skoczek A.: Pol. Arch. wet. 19, 357, 1976.
33. Smith L. D. S.: The pathogenic anaerobic bacteria, Albert Balowa-Ch. C. Thomas, Springfield, 1976, s. 314.
34. Staskiewicz G.: Medycyna Wet. 10, 666, 1947.
35. Sugiyama H.: J. Bact. 62, 81, 1951.
36. Watukiewicz-Wasilewska J., Szyszko K.: Roczniki PZH 18, 493, 1967.
37. Zaleski S.: Mikrobiologia konserw rybnych w zalewie olejowej i w sosie własnym. Referat wygłoszony w dn. 6.06.1963 r. w Swinoujściu.
38. Zaleski S.: Sterylizacja i inaktywowanie bakterii i ich metabolitów w środowisku konserwy rybnej. Referat wygłoszony na konferencji szkoleniowej SITPS, Szczecin 1972.

Adres autora: dr wet. Andrzej Skoczek, ul. Wolska 46/48 m. 57, 01-187 Warszawa.

JAN URADZIŃSKI

Wpływ ogrzewania subletalnego na wytwarzanie lipazy przez *Staphylococcus aureus*

Z Katedry Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego ART w Olsztynie

Materiał i metody

Tłuszcze roślinne i zwierzęce w czasie przechowywania podlegają procesom rozkładu, określanym jako jęlczenie. Zjełczałe tłuszcze mają zmniejszoną wartość odżywczą, a w przypadku daleko posuniętego rozkładu mogą być toksyczne dla ludzi i zwierząt (4, 6, 7, 11, 14).

Surowce tłuszczowe, oprócz jęlczenia chemicznego, w dużym stopniu ulegają procesom rozkładu biologicznego. W niekorzystnych przemianach biologicznych istotną rolę odgrywają enzymy wytwarzane przez drobnoustroje. Podstawowym enzymem inicjującym proces jęlczenia tłuszczu jest lipaza (14). Źródłem tego enzymu są tkanki zwierzęce, bakterie i grzyby. Z bardziej znanych drobnoustrojów produkujących lipazę należy wymienić: pałeczki *Pseudomonas*, gronkowce, laseczki tlenowe i beztlenowe, pleśnie z rodzaju *Oidium*, *Penicilinum* i *Cladosporium*.

Lipolityczne właściwości gronkowców posiadają znaczenie praktyczne. Alder i wsp. (1) sugerują, że „staphylococcus egg yolk factor”, który jest lipazą, podobnie jak koagulaza, pozostaje w związku z chorobotwórczością tego drobnoustroju. Richou i wsp. (10) przy określaniu właściwości chorobotwórczych gronkowców uważają powyższy czynnik za równorzędny z wytwarzaniem koagulazy. Dostępne piśmiennictwo (2, 8, 13) dużo miejsca poświęca zagadnieniom wpływu różnych temperatur na aktywność lipazy gronkowcowej. Brak jest natomiast informacji na temat produkowania tego enzymu przez uszkodzone termicznie komórki *Staphylococcus aureus*. W związku z tym podjęto badania własne, których celem było określenie wpływu ogrzewania, w zakresie temperatur subletalnych, na wytwarzanie lipazy przez ten drobnoustrój.

Przedmiotem badań był szczep *Staphylococcus aureus* nr 262 otrzymany z kolekcji PZH w Warszawie.

Po ożywieniu liofilizatu badany drobnoustrój przesiewano do bulionu odżywczego i po 24 godzinach inkubacji w temperaturze 37°C uzyskiwano hodowlę wyjściową do dalszych badań.

Do oznaczania lipazy gronkowcowej stosowano metodę Cartera oraz jej modyfikację według własnej koncepcji, która polegała na tym, że przygotowane podłoże Cartera (5) wylewano do jałowych płytek Petriego w ilości 40 ml na każdą płytkę. Następnie, w zestalonym podłożu wykonywano studzienki o średnicy 8,0 mm. Do poszczególnych studzienek oznakowanych kolejnymi cyframi wprowadzano po 0,1 ml wyjściowej hodowli bulionowej, doprowadzonej przy pomocy skali Mc Farlanda do odpowiedniej gęstości bakterii, oraz jej kolejne 10-krotne rozcieńczenia w płynie Ringera. Analogicznie postępowano z hodowlą bulionową gronkowców ogrzaną przez 15 minut w następujących temperaturach: 48°C, 60°C, 80°C, 84°C i 86°C. Jednocześnie z hodowli wyjściowej gronkowców oraz jej poszczególnych rozcieńczeń wykonywano posiewy na 3 płytki z agarem zwykłym, które inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny. Po tym czasie liczono wyrosłe na agarze kolonie, podając wyniki w odniesieniu do 0,1 ml zawiesiny bakteriologicznej nie ogrzanej oraz ogrzanej w różnych temperaturach.

Nie odwrócone płytki z podłożem Cartera inkubowano w temperaturze 44°C przez 48 godzin. Po okresie inkubacji mierzono strefy zmętnienia, podając wyniki w milimetrach.

W identyczny sposób wykonano 9 dalszych serii badań.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki poddane analizie statystycznej zestawiono w tab. 1 i 2.

W tab. 1 przedstawiono liczby komórek *Staphylococcus aureus* przed ogrzaniem, po ogrzaniu w różnych temperaturach oraz wartości procentowe bakterii, które przeżyły ogrzewanie.

Tab. 1. Przeżywalność (p) *Staphylococcus aureus* po ogrzaniu przez 15 minut w różnych temperaturach

	Liczba bakterii			Liczba bakterii			Liczba bakterii			Liczba bakterii		
	przed ogrzaniem	po ogrzaniu w 48°C	P%	przed ogrzaniem	po ogrzaniu w 80°C	P%	przed ogrzaniem	po ogrzaniu w 80°C	P%	przed ogrzaniem	po ogrzaniu w 84°C	P%
\bar{x}	$2,10 \times 10^7$	$1,43 \times 10^7$	70,81	$4,37 \times 10^7$	$4,21 \times 10^4$	$1,05 \times 10^{-1}$	$4,27 \times 10^7$	$2,44 \times 10^6$	$5,85 \times 10^{-5}$	$4,17 \times 10^7$	$0,04 \times 10^7$	$1,22 \times 10^{-4}$
S	$6,95 \times 10^6$	$6,11 \times 10^5$	17,58	$9,30 \times 10^5$	$2,25 \times 10^4$	0,07	$8,60 \times 10^6$	$2,83 \times 10^6$	$7,33 \times 10^{-5}$	$1,06 \times 10^7$	$0,08 \times 10^7$	$2,08 \times 10^{-4}$

Jak wynika z uzyskanych danych, ogrzewanie w coraz wyższych temperaturach było przyczyną istotnych zmian liczby bakterii. Działanie temperatury 48°C przeżyło 70,81% bakterii przy ich początkowym *inoculum* wynoszącym średnio $2,10 \times 10^7$ komórek w 1 ml zawiesiny. Procent przeżywalności po ogrzaniu w wyższych temperaturach: 60°C, 80°C i 84°C kształtował się odpowiednio: $1,05 \times 10^{-1}$ %, $5,95 \times 10^{-5}$ %, $1,22 \times 10^{-6}$ %. Ogrzanie w temperaturze 86°C przez 15 minut spowodowało śmierć wszystkich mikroorganizmów przy początkowym *inoculum* wynoszącym $4,15 \times 10^7$ bakterii w 1 ml zawiesiny, co uniemożliwiło prowadzenie dalszych badań.

Nie ulega natomiast zmianie synteza koagulazy. Partiza i Iandolo (9) w badaniach przeprowadzonych na komórkach *Staphylococcus aureus* ogrzanych w temperaturze 54°C przez 15 minut nie stwierdzili zmian w produkcji koagulazy, w porównaniu z bakteriami nie ogrzanymi. Badacze ci ponadto obserwowali pojawienie się tego enzymu nawet w podłożach, które uniemożliwiały rozmnażanie się gronkowców uszkodzonych termicznie. Nie ulegała również zmianie ilość enterotoksyny B produkowanej przez nie ogrzane oraz ogrzane komórki *Staphylococcus aureus* S 6 (cyt. 15).

Wiadomo, że przy ocenie chorobotwórczości gronkowców oprócz zdolności wytwarzania wy-

Tab. 2. Szerokość stref kwasów tłuszczowych wytrąconych lipazą wytwarzaną przez nie ogrzane oraz ogrzane w różnych temperaturach komórki *Staphylococcus aureus*

	Strefa kwasów tłuszczowych wytrąconych przez bakterie		Różnica %	Strefa kwasów tłuszczowych wytrąconych przez bakterie		Różnica %	Strefa kwasów tłuszczowych wytrąconych przez bakterie		Różnica %	Strefa kwasów tłuszczowych wytrąconych przez bakterie		Różnica %
	nie ogrzane	ogrzane w 48°C		nie ogrzane	ogrzane w 60°C		nie ogrzane	ogrzane w 80°C		nie ogrzane	ogrzane w 84°C	
\bar{x}	4,55	4,80	3,61	4,65	4,40	5,11	4,65	3,25	29,44	4,80	0,10	97,78
s	0,44	0,42	9,80	0,41	0,39	7,17	0,34	0,79	19,40	0,26	0,32	7,03
t-Studenta	1,30			1,39			5,15*			36,41*		

Objaśnienie: x — różnica istotna na poziomie = 0,01.

W tab. 2 przedstawiono strefy zmętnienia powstające w podłożu Cartera pod wpływem lipazy produkowanej przez nie ogrzane oraz ogrzane w różnych temperaturach komórki *Staphylococcus aureus*. Do interpretacji wyników badań przyjęto, że szerokość strefy zmętnienia jest miarą intensywności wytwarzania lipazy przez populację badanego drobnoustroju. Jak wynika z danych uwidoczonych w tab. 2 ogrzanie badanego szczepu w temperaturze 48°C spowodowało zwiększenie intensywności wytwarzania lipazy o 3,61%, co jednak w porównaniu z nie ogrzaną kontrolą nie stanowi istotnej różnicy potwierdzonej testem t-Studenta. Ogrzanie w temperaturze 60°C było przyczyną nieistotnego (5,11%) zmniejszenia intensywności wytwarzania tego enzymu przez ogrzane populacje gronkowców. Ogrzanie natomiast w wyższych temperaturach: 80°C i 84°C wpłynęło w istotny sposób na zmniejszenie intensywności wytwarzania lipazy odpowiednio o: 29,44% i 97,78%. Ogrzanie w temperaturze 86°C spowodowało śmierć wszystkich komórek bakteryjnych oraz całkowitą utratę wytwarzania przez nie lipazy.

Niektórzy autorzy (3, 9, 12) w swoich badaniach przeprowadzonych na uszkodzonych termicznie komórkach *Staphylococcus aureus* obserwowali również zmianę aktywności niektórych innych enzymów. Dotyczyło to głównie enzymów biorących udział w cyklu przemian kwasów trójkarboksylowych. Stwierdzono, że osłabieniu ulega aktywność dehydrogenazy butandiolowej i mleczanowej, hydratazy fumaranowej (fumarazy), aldolazy fruktozodwufosforanowej oraz oksydazy NADP (3, 12).

mienionych enzymów bierze się pod uwagę zdolność wytwarzania innych enzymów jak np. hialuronidazy, staphylokinazy, dezoksyrybonukleazy, fosfatazy itp. Dlatego też dla pełnej oceny wpływu temperatur subletalnych na te bakterie oraz ich możliwości enzymotwórcze w żywności należy prowadzić dalsze badania.

Wnioski

1. Ogrzanie badanego szczepu *Staphylococcus aureus* w temperaturze 48°C przez 15 minut powodowało nieznaczne zwiększenie intensywności wytwarzania lipazy.

2. Ogrzanie badanego szczepu w temperaturach 60°C do 84°C było przyczyną zmniejszonego wytwarzania lipazy. Wraz z podwyższeniem temperatury ogrzewania, wytwarzanie tego enzymu ulegało ciągłemu zmniejszaniu.

Piśmiennictwo

1. Alder V. G., Gillespie W. A., Herdan G.: J. path. Bact. 66, 132, 1953.
2. Alford J. A., Pierce D. A., Sulzbacher W. L.: Proc. 15-th Res. Conf. Amer. Meat Inst. Found. Chicago, 1963.
3. Bluhm L., Oröbal Z. J.: J. Bact. 97, 140, 1969.
4. Bubień Z., Wartenberg L.: Medycyna Wet. 21, 517, 1965.
5. Carter C. H.: J. Bact. 79, 753, 1960.
6. Kaszubkiewicz C., Wartenberg L.: Medycyna Wet. 13, 228, 1957.
7. Kaszubkiewicz C., Wartenberg L.: Medycyna Wet. 17, 166, 1961.
8. Oździńska E., Kafel S.: Medycyna Wet. 24, 225, 1968.
9. Partiza M. W., Iandolo J. J.: Appl. Microbiol. 17, 836, 1969.
10. Richou R., Quinchon C., Chiröl C.: C. r. Séanc. Soc. Biol. Paryż.
11. Szczygiel A.: Podstawy fizjologii żywienia. PZWL, 1956.
12. Tomlins R. I., Pierson M. D., Ordal Z. J.: Can. J. Microbiol. 17, 759, 1971.
13. Vadehra D. V., Harmon L. G.: Appl. Microbiol. 15, 480, 1967.
14. Zahaczewski J., Komorowski A.: Medycyna Wet. 28, 632, 1972.
15. Zaleski S.: Medycyna Wet. 33, 341, 1977.

Adres autora: dr Jan Uradziński, Al. Warszawska 87 m. 21, 10-083 Olsztyn.

Урадзинский Я. — Влияние сублетального обогрева на образование липазы *Staphylococcus aureus*.

Цель исследований состояла в определении влияния обогрева в диапазоне сублетальных температур на образование липазы *Staphylococcus aureus*.

Предметом исследований были штамм *Staphylococcus aureus* nr 262.

При определении стафилококковой липазы применялся метод Картера и собственная его модификация.

Исследования велись параллельно с необогреваемыми микроорганизмами, составляющими контроль, а также с обогреваемыми 15 минут в следующих температурах: 48°C, 60°C, 80°C, 84°C и 86°C.

Было выполнено по 10 серий с каждой температурой обогрева.

Проведенные исследования показали, что обогрев клеток *Staphylococcus aureus* в тем. 48°C вызывал незначительное (3,61%) увеличение образования липазы. Обогрев же в высших температурах: 60°C, 80°C и 84°C являлся причиной уменьшенного обра-

зования липазы соответственно на: 5,11%, 29,44% и 97,78%. Обогрев стафилококков в темп. 86°C вызвал смерть всех клеток и полную потерю образования ими липазы.

Uradziński J. — The influence of sublethal heating on lipase production by *S. aureus*.

The examinations were performed using Cartér's method and its modification, and *Staph. aureus* No 262. The experiment was conducted simultaneously with heated bacteria for 15 min at 48°, 60°, 80°, 84° and 86°C and unheated which served as controls. The examinations were repeated 10 times. It was found that the temperature of 48°C increased a little (3.61%) lipase production. In contrast, higher temperatures (60°, 80°, 84°C) caused a decrease of lipase production at 5.11, 29.44, 97.78% respectively. At 86°C the bacterial cells proved to be dead; the absence of lipase was stated too.

FIZJOLOGIA ZWIERZĄT

HENRYK WESOŁOWSKI

Badania histochemiczne wątroby świnek morskich po różnych okresach podawania siarki elementarnej

Z Zakładu Histologii i Embriologii Instytutu Biostruktury Pomorskiej Akademii Medycznej

W badaniach własnych prowadzonych od szeregu lat stwierdzono, że po 5 dniach podawania *per os* dużych dawek siarki elementarnej u świnek morskich występują zmiany morfologiczne i osłabienie histochemicznych odczynów enzymów hydrolitycznych i oddechowych w wątrobie (11), nerkach (12) i w błonie śluzowej jelita cienkiego (13). U zwierząt tych po 30 dniach podawania tej samej ilości siarki zmiany morfologiczne i histoenzymatyczne występowały tylko u niektórych badanych świnek. Stosunkowo szybkie cofanie się początkowych zmian morfologicznych i histoenzymatycznych w wątrobie, nerkach i błonie śluzowej jelita cienkiego wskazuje na dużą łatwość przystosowawczą świnek morskich do stosowanej w badaniach dziennej dawki siarki elementarnej.

Z danych piśmiennictwa wiadomo, że siarka elementarna a zwłaszcza związki siarki nieorganicznej dodawane do pożywienia wywierają korzystny wpływ w hodowli drobiu, zwierząt futerkowych i owiec. U wymienionych zwierząt siarka dodawana w niewielkiej dawce do pożywienia przyspiesza wzrost i przyrost ciężaru ciała (5), wpływa dodatnio na gęstość i wygląd sierści u zwierząt futerkowych (7) oraz przyspiesza przyrost i trwałość runa u owiec (2, 8).

Celem tych badań było określenie wpływu różnych okresów podawania siarki elementarnej na przyrost ciężaru ciała świnek morskich, na ilość związków siarki dwuwartościowej wydalanej z moczem oraz na histochemiczne zmiany w wątrobie.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 80 świnek morskich, samców hodowli własnej, w wieku 3—12 miesięcy, karmionych paszą standardową i przebywających w takich samych warunkach. Zwierzęta podzielono na cztery grupy doświadczalne po 20 świnek w grupie (10 doświadczalnych i 10 kontrolnych). Świnkom doświadczalnym podawano *per os* drobno sproszkowaną siarkę elementarną^{*} w zawiesinie wody destylowanej w jednorazowej dziennej dawce 200 mg/kg ciężaru ciała. Okres doświadczenia w I grupie wynosił 30, w II — 90, w III — 180, a w IV — 270 dni.

W pierwszym i ostatnim dniu doświadczenia zwierzęta ważono celem obliczenia średniego przyrostu ciężaru ciała. W ostatnich trzech dniach przed sekcją w moczu zwierząt doświadczalnych i kontrolnych oznaczano ilość wydalanych związków siarki dwuwartościowej. W tym celu świnki morskie umieszczano w klatkach metabolicznych, a próbki moczu do badań pobierano z dobowych zbiorów. Związki siarki dwuwartościowej oznaczano reakcją azydku sodu z jodem wg Kurzawy (4), a uzyskane wartości opracowano statystycznie.

Materiał do badań histochemicznych pobierano zawsze z prawego płata wątroby. Pobrane wycinki utrwalano w temp. 4°C w płynie Carnoya, kwasie trójchlorooctowym i w utrwalczu Bakera. Skrawki przeglądowe barwiono metodą rutynową hematoksyliną i eozyną. Białka z grupami SH barwiono metodą Barrnetta i Seligmana (3), RNA i DNA metodą Bracheta (3), w modyfikacji Scott (10), a lipidy — czerwieni oleistą wg Lillie (6), w skrawkach utrwalo-nych w płynie Bakera.

Wyniki i omówienie

Świnki morskie, którym podawano siarkę przez 30 dni charakteryzowało duże zróżnico-

* — produkcji Tarnobrzeskich Zakładów Kopalnictwa i Przetwórstwa Siarki, o średnicy pyłu od 0,5—5 μm.